

Р. Стейниер
Э. Эдельберг
Дж. Ингрэм

МИР МИКРОБОВ

3

ТОМ

Издательство
"Мир"
Москва

2





THE MICROBIAL WORLD

Fourth edition

ROGER Y. STANIER
Institut Pasteur
Paris, 15^e, France

EDWARD A. ADELBERG
Yale University School of
Medicine
New Haven, Connecticut,
06510

JOHN L. INGRAHAM
University of California
Davis, California, 95616

Prentice-Hall, Inc.,
Englewood Cliffs,
New Jersey

Р. Стейниер
Э. Эдельберг
Дж. Ингрэм

МИР МИКРОБОВ

3
ТОМ

Перевод с английского
под редакцией
д-ра биол. наук Е. Н. КОНДРАТЬЕВО,
и
д-ра биол. наук С. В. ШЕСТАКОВА

Издательство
»Мир«
Москва
1979

Книга известных микробиологов, выдержала четыре издания и переведена на французский, испанский, итальянский и японский языки. Авторам удалось дать четкую картину мира микробов во всем его многообразии и взаимоотношениях с другими живыми существами; при этом широко используются последние достижения микробиологии, генетики и вирусологии.

Русское издание выходит в трех томах. В третьем томе рассмотрены классификация и различные группы бактерий, геохимическая роль микроорганизмов, типы симбиоза, патогенные микроорганизмы и вызываемые ими заболевания, использование различных бактерий человеком.

Предназначена для микробиологов, вирусологов, биохимиков, генетиков, молекулярных биологов, врачей, для преподавателей, аспирантов и студентов университетов, медицинских, педагогических и сельскохозяйственных институтов.

Редакция литературы по биологии

2605030000

© 1976, 1970, 1963, 1957 by Prentice-Hall Inc.
Englewood Cliffs, New Jersey

С $\frac{21007-432}{041(01)-79}$ — подписное
издание

© Перевод на русский язык, «Мир», 1979

16 КЛАССИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ

Наука о биологической классификации известна под названием *таксономии*. Перед ней стоят две задачи: во-первых, как можно полнее описать и идентифицировать основные таксономические единицы, или *виды*, и, во-вторых, разработать удобный способ расположения и систематического перечисления этих единиц.

ВИДЫ: ЕДИНИЦЫ КЛАССИФИКАЦИИ

Понятие вида является сложным. Вообще говоря, вид представляет собой совокупность особей (а в случае микроорганизмов — клональных популяций), обладающих высокой степенью фенотипического сходства, но наряду с этим обнаруживающих заметное отличие от других совокупностей такого же рода. Распознавание видов было бы невозможно, если бы существовала непрерывная изменчивость природных форм: в этом случае ряд переходных форм заполнил бы разрыв между двумя совокупностями организмов с достаточно различными фенотипами. Однако уже на ранних этапах развития биологии стало очевидно, что в большинстве групп животных и растений члены любой группы достаточно четко разделены на прерывистые и различающиеся между собой совокупности. Благодаря этому понятие вида оказалось пригодным в качестве основы таксономического оперирования.

В пределах каждой совокупности особей обнаруживается некоторая степень внутреннего фенотипического разнообразия, обусловленного постоянной генетической изменчивостью. Поэтому решение вопроса о том, какая степень фенотипического различия оправдывает деление совокупности на два или большее число видов, иными словами, каково допустимое разнообразие внутри вида, зависит от научного такта исследователя. Мнения по этому вопросу расходятся. Самых систематиков в общем можно разделить на две группы: на тех, кто считает, что вид имеет широкие границы, и тех, кто подразделяет виды на основе более тонких различий между организмами.

Для растений и животных, размножающихся половым путем, можно дать определение вида в генетических и эволюционных терминах. Пока популяция таких организмов свободно скрещивается случайным образом, ее общий генетический фонд претерпевает непрерывное перераспределение, а новые мутации, являющиеся источником фенотипической изменчивости, рассеиваются по всей популяции. Такая само-

скрещивающаяся популяция может эволюционировать в ответ на изменение окружающих условий, но при этом она будет эволюционировать как единое целое. *Дивергентная эволюция*, приводящая в конечном счете к появлению новых видов, может происходить только в том случае, если часть популяции подвергается репродуктивной изоляции, оказавшись в условиях, отличающихся от условий существования остальной популяции. На первом этапе такая изоляция носит, как правило, географический характер, так как между двумя частями исходной непрерывной популяции возникает некий физический барьер (например, горная цепь или водное пространство). За счет взаимного скрещивания внутри каждой из этих субпопуляций сохраняется общий генетический фонд, однако в результате случайного мутирования и селекции обе субпопуляции теперь могут эволюционировать различными путями. Они будут продолжать дивергировать в течение всего времени, пока между ними существует географический барьер. В конечном итоге накопленные изменения становятся настолько значительными, что на географическую изоляцию накладывается *физиологическая*: представители этих двух популяций уже больше не способны к взаимному скрещиванию. Поэтому, если даже обе популяции в дальнейшем смешиваются, их генетические фонды остаются навсегда разделенными, вследствие того что они достигли состояния необратимости. Эти соображения ведут к динамическому определению вида как эволюционной стадии, на которой фактически или потенциально способное к взаимному скрещиванию множество разделяется на два или большее число множеств, физиологически не способных к взаимному скрещиванию. Такое определение является в сущности объяснением возникновения в природе видовой прерывистости форм. В то же время оно обеспечивает экспериментальный критерий для распознавания видов: неспособность к скрещиванию.

Поскольку микроорганизмы в своем большинстве являются гаплоидными и размножаются преимущественно неполовым путем, к ним, очевидно, не применима концепция вида, вытекающая из исследования растений и животных. Микробные виды нельзя рассматривать как самоскрещивающиеся популяции: два потомка, образованные при делении бактериальной клетки, размножаются отдельно друг от друга и в принципе могут эволюционировать дивергентным образом. Половая и парасексуальная рекомбинация у эукариотических микроорганизмов, а также особые механизмы рекомбинации, характерные для прокариот, несколько ослабляют генетическую изоляцию. Однако очень трудно оценить эволюционное влияние этих процессов рекомбинации, так как не известно, с какой частотой они возникают в природных условиях. У прокариот проблема еще более усложняется вследствие переноса эписом, который является относительно не-

специфичным и допускает обмен генетическим материалом между бактериями, существенно различающимися по своей генетической конституции.

Поскольку динамика эволюции микроорганизмов резко отличается от динамики эволюции растений и животных, отсутствует теоретическая основа для предположения о том, что эволюция микроорганизмов привела к фенотипической прерывистости, позволяющей распознавать виды. Однако опыт микробиологов-систематиков показывает, что если тщательно проанализировать большое число штаммов данной микробной группы, то обычно их можно расположить в прерывистый ряд подгрупп, и именно эти подгруппы штаммов микробиологи-систематики эмпирически рассматривают как виды. Возможно, что более глубокое понимание динамики эволюции микроорганизмов в конечном счете позволит найти правильное определение микробного вида; если это удастся, то скорее всего оно будет отличаться от определения вида, применимого к растениям и животным.

В бактериальных популяциях генетические изменения в результате мутирования возникают настолько быстро, что было бы неблагоразумно выделять виды на основе различий по небольшому числу признаков, кодируемых отдельными генами. Следовательно, наилучшее рабочее определение бактериального вида можно сформулировать следующим образом: вид — это группа штаммов, обнаруживающая высокую степень общего фенотипического сходства и отличающаяся от родственных групп штаммов по многим независимым признакам.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ

В идеальном случае виды должны быть охарактеризованы полным описанием их фенотипов или — еще лучше — их генотипов. Практическая таксономия во многом уступает этому идеалу; в большинстве биологических групп даже для фенотипов дается лишь частичное описание, генотипические же характеристики чрезвычайно редки.

Согласно общему правилу, наиболее легко определяемым фенотипическими признаками являются непосредственно наблюдаемые морфологические или анатомические особенности. По этой причине биологическая классификация практически на всех уровнях до сих пор основана почти полностью на морфологических характеристиках организмов. Единственным исключением, в сущности, является классификация бактерий. Из-за чрезвычайной простоты строения бактерий таксономисты располагают лишь ограниченным набором признаков, не позволяющих на их основе создать соответствующую классификацию. Поэтому бактериологи-систематики всегда стараются отыскать признаки иного рода, например биохимические, физиологические или экологические для до-

полнения структурных данных. Классификация бактерий в большей степени, чем классификация других биологических групп, базируется на *функциональных* признаках. Большинство бактерий можно идентифицировать, только выяснив, какие процессы они способны осуществлять, а не просто по их внешнему виду.

Это обстоятельство ставит перед бактериологом-систематиком дополнительную проблему. Чтобы узнать, какие процессы способна осуществлять бактерия, нужно провести с ней эксперименты. Число возможных экспериментов чрезвычайно велико, и хотя все они дают фактический материал, последний не обязательно имеет таксономическое значение, т. е. способствует отграничению изучаемого организма от родственных совокупностей. Следовательно, бактериолог-систематик никогда не может быть уверен, что он выполнил именно те эксперименты, которые важны для таксономических целей; вполне вероятно, что определенные эксперименты, которые могли бы обнаружить существование подгрупп в коллекции штаммов, не будут поставлены и в результате исследования придет к ошибочному выводу, что он имеет дело с непрерывным рядом штаммов. Единственный очевидный путь для обхода этой трудности — составление настолько полных фенотипических характеристик, насколько это вообще возможно.

НАИМЕНОВАНИЕ ВИДОВ

В соответствии с правилами, известными как биномиальная система номенклатуры, каждый биологический вид имеет название, состоящее из двух латинских слов. Первое слово означает таксономическую категорию, находящуюся на один порядок выше, чем категория, обозначенная вторым словом, а именно род, к которому принадлежит данный вид; второе слово определяет конкретный вид этого рода. Родовое (но не видовое) название пишется с заглавной буквы, а весь оборот выделяется курсивом: *Escherichia* (родовое название) *coli* (видовое название). В контексте, в котором не может произойти путаницы, родовое название часто сокращают до начальной буквы: *E. coli*.

Биологическая номенклатура подчиняется целому ряду строгих и сложных правил; их назначение — сделать номенклатуру как можно более устойчивой. Видовое название, присвоенное вновь открытому виду, не может быть изменено, если не будет показано, что этот организм уже был описан под другим видовым названием; в этом случае старое название пользуется приоритетом. К сожалению, подобная стабильность не распространяется на родовую половину названия, так как распределение родственных видов по родам может проводиться разными путями и часто с течением времени меняется при поступлении новой информации. Например,

E. coli раньше относили к роду *Bacterium* под названием *Bacterium coli* и к роду *Bacillus* под названием *Bacillus coli*. Эти три названия являются синонимами, поскольку все они принадлежат одному и тому же виду. Такая особенность биномиальной системы может вносить большой беспорядок, поэтому в таксономическом описании обычно перечисляют все синонимы, чтобы свести путаницу к минимуму. Биномиальная номенклатура используется для всех биологических групп, кроме вирусов. Мнения вирусологов о том, какой способ наименования является наилучшим для представителей этой группы, расходятся: одни из них стоят за распространение на вирусы биномиальной системы, другие предпочитают иную систему, дающую в закодированном виде информацию о свойствах данного организма.

В бактериальной систематике при наименовании нового вида выделяют *типовой штамм*, который хранится в коллекции культур; если он окажется утраченным, то выбирают *неотиповой штамм*, наиболее полно соответствующий описанию типового штамма. Типовой штамм важен с точки зрения номенклатуры, так как за ним закреплено видовое название. Если какие-либо штаммы, первоначально включенные в тот же вид, при последующем изучении будут признаны заслуживающими выделения в особые виды, они должны получить новые названия, а старое видовое название сохраняется за типовым и родственными ему штаммами.

При таксономическом упорядочении биологической группы отдельные виды обычно объединяют в ряд последовательно повышающихся категорий: род, семейство, порядок, класс и отдел (или тип). Такая структура называется *иерархической*, потому что каждая категория в восходящих рядах объединяет постепенно возрастающее число таксономических единиц на основе постепенно уменьшающегося числа общих признаков. Необходимо отметить, что категория рода занимает особое положение, поскольку в соответствии с правилами номенклатуры вид не может получить название, если он не отнесен к определенному роду. Помещение вида в таксономическую категорию, более высокую, чем род, не вносит какой-либо существенной номенклатурной информации; оно просто указывает на положение данного организма по отношению к другим организмам в принятой системе классификации.

ПРОБЛЕМЫ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО РАСПОЛОЖЕНИЯ ОРГАНИЗМОВ

Когда имеют дело с большим числом различных объектов, возникает необходимость в создании определенной системы их классификации для хранения и повторного использования соответствующей информации. При этом неважно, какие кри-

терии выбраны для проведения такой классификации, лишь бы они были четкими и удобными. Например, книги можно классифицировать несколькими способами: по темам, авторам или названиям. Разные индивидуумы склонны применять различные системы в зависимости от особенностей их целей и вкусов. Такие системы классификации, основанные на произвольно выбранных критериях, называют *искусственными*.

Самые первые системы биологической классификации по своей сути были в основном искусственными. Однако по мере накопления сведений об анатомии растений и животных становилось очевидным, что эти организмы соответствуют ряду *главных образцов* или *типов*, причем каждый из них обладает множеством общих признаков, включая и те, которые могут оставаться незамеченными при поверхностном рассмотрении. Подобными примерами среди позвоночных животных являются типы млекопитающих, птиц и пресмыкающихся. В середине XVIII в. Линней предложил первую систему биологической классификации, в которой была сделана попытка сгруппировать организмы на основе такого типологического сходства и различия между ними. Линнеевская систематика была более полезной, чем все предыдущие искусственные классификации, так как определение таксономического положения организма давало большой объем информации о его свойствах: говоря, что животное относится к позвоночному классу млекопитающих, мы тем самым подразумеваем, что оно обладает всеми свойствами, отличающими млекопитающих в целом от других позвоночных. Поскольку линнеевская классификация отражала *биологическую природу* классифицируемых объектов, она стала известна как *естественная система* классификации в отличие от предшествующих искусственных систем.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ТАКСОНОМИИ

После того как был установлен факт биологической эволюции, в концепцию естественной систематики сразу же был введен еще один параметр. Для биологов XVIII в. типологическая группировка организмов выражала главным образом *сходство* этих последних: для биологов же последарвиновского периода она означала, что между организмами существуют *родственные связи*. В XIX в. соответственно изменилась и концепция «естественной» системы: она стала системой, группирующей организмы на основе их *эволюционного родства*. Таксономическая иерархия в некотором отношении стала напоминать генеалогическое древо. Однако аналогия между генеалогическим древом и иерархией не должна заходить слишком далеко, так как ось времени, подразумеваемая в генеалогическом древе, полностью отсутствует в таксономической иерархии организмов, существующих в настоя-

щее время. Это обстоятельство не было достаточно хорошо понято многими биологами-эволюционистами, для которых систематика внезапно приобрела новую цель: построение иерархии, отражающей эволюционные взаимоотношения между организмами. Такую таксономическую систему называют *филогенетической*.

Однако по мере накопления опыта и его осмысления стало ясно, что задачу филогенетической классификации можно выполнить лишь в редких случаях. Путь, по которому в действительности шла эволюция, может быть установлен только исходя из прямых исторических данных, содержащихся в так называемой палеонтологической летописи — ископаемых остатках. Эта летопись в лучшем случае фрагментарна и становится совершенно неразборчивой в горных породах докембрия, образовавшихся более 400 млн. лет назад. В начале кембрийского периода уже существовало большинство современных биологических групп; главные эволюционные приобретения посткембрийского периода — это позвоночные животные и сосудистые растения. Соответственно ископаемые остатки для этих двух групп достаточно полны и позволяют восстановить с определенной степенью точности основные линии эволюции позвоночных животных и сосудистых растений. Для всех других биологических групп главный путь эволюции вряд ли когда-нибудь будет установлен; поэтому из-за отсутствия объективных данных невозможно базировать их классификацию на филогенетической основе.

НУМЕРИЧЕСКАЯ ТАКСОНОМИЯ

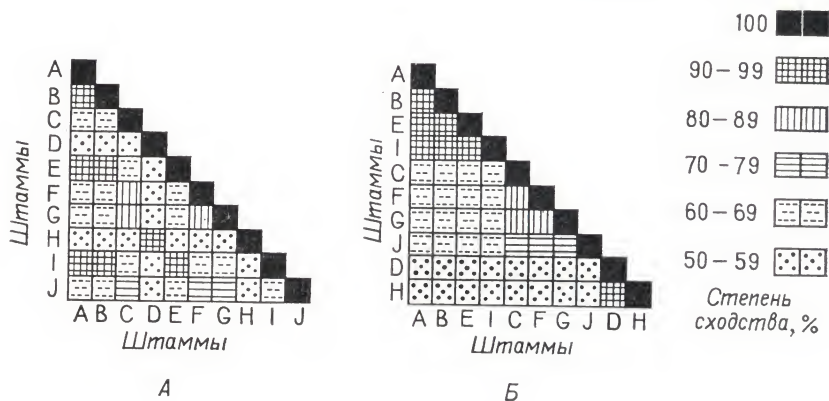
По этим, а также и по другим причинам большинство современных систематиков предпочитают филогенетическому подходу более эмпирический: они пытаются создать таксономическую классификацию, опираясь на количественную оценку степени сходства и различия организмов. Впервые такой подход был предложен современником Линнея Адансоном (M. Adanson) и получил название *адансоновской* (или *нумерической*) *таксономии*. В ее основе лежит допущение, что все фенотипические признаки равноценны, и это позволяет количественно выразить таксономические дистанции между организмами в виде отношения числа объединяющих их признаков к общему числу изученных признаков. Значение количественных связей, определенных таким способом, сильно зависит от числа изученных признаков; для получения типичного образца фенотипа они должны быть как можно более многочисленными и разнообразными.

До недавнего времени адансоновский подход казался непрактичным в связи с громоздкостью числовых операций. Эта трудность отпала с внедрением счетных машин, которые могут быть запрограммированы для сравнения данных о большом числе признаков и организмов и для расчета степени

Рис. 16.1. Матрицы сходства для коллекции из 10 бактериальных штаммов, обозначенных буквами от А до J. А. Матрица сходства до пере-

распределения. Штаммы расположили таким образом, чтобы рядом оказались те из них, которые наиболее сходны по фенотипу. (Sneath

P. H. A., The Construction of Taxonomic Groups, in Microbial Classification, Ainsworth G. C., Sneath P. H. A. (eds.), New York, Cambridge University Press, 1962.)



сходства между ними. Для любой пары организмов расчет сходства можно сделать двумя слегка различающимися методами (табл. 16.1). Коэффициент сходства S_J не учитывает признаки, которые у обоих организмов отрицательны, и основывается только на положительных парах; при вычислении коэффициента соответствия S_S (matching coefficient) используются как положительные, так и отрицательные пары признаков.

После того как попарно вычислены коэффициенты сходства или соответствия для всех изучаемых организмов, данные располагают в виде матрицы сходства. В качестве примера на рис. 16.1, А показана такая матрица для серии из 10 бак-

ТАБЛИЦА 16.1
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА СХОДСТВА И КОЭФФИЦИЕНТА СООТВЕТСТВИЯ ДЛЯ ДВУХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ, КАЖДЫЙ ИЗ КОТОРЫХ ОХАРАКТЕРИЗОВАН ПО МНОГИМ ($a+b+c+d$) РАЗЛИЧНЫМ ПРИЗНАКАМ

Число признаков, положительных у обоих штаммов: a

Число признаков, положительных у штамма 1 и отрицательных у штамма 2: b

Число признаков, отрицательных у штамма 1 и положительных у штамма 2: c

Число признаков, отрицательных у обоих штаммов: d

$$\text{Коэффициент сходства } (S_J) = \frac{a}{a+b+c}$$

$$\text{Коэффициент соответствия } (S_S) = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

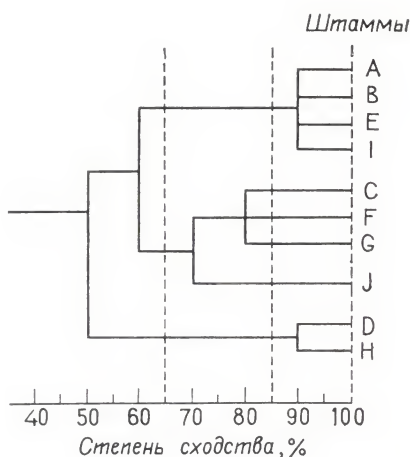


Рис. 16.2. Дендрограмма, показывающая взаимоотношения между сходными бактериальными штаммами, данные о которых представлены на рис. 16.1. Две пунктирные вертикальные линии обозначают возможные уровни сходства, при которых могут быть установлены последовательные разряды (например, род и вид) в таксономической иерархии. (Sneath P. H. A., The Construction of Taxonomic Groups, in Microbial Classification, Ainsworth G. C., Sneath P. H. A., (eds.), New York, Cambridge University Press, 1962.)

териальных штаммов. После просмотра она может быть перестроена таким образом, чтобы сходные штаммы оказались по соседству (рис. 16.1, Б). Затем данные располагают в виде дендрограммы (рис. 16.2), служащей основой для определения таксономического положения организмов, исходя из численных связей между ними. Две пунктирные линии на рис. 16.2 показывают уровни сходства, которые можно рассматривать как достаточные для разграничения двух различных таксономических категорий (например, рода и вида).

Нумерическая таксономия в отличие от филогенетической не позволяет делать дополнительные выводы, касающиеся эволюции организмов, но она обеспечивает более объективную и устойчивую основу для создания таксономических групп. Может быть, самое большое преимущество этой системы заключается в том, что ее нельзя использовать до тех пор, пока не будет определено относительно большое число признаков; таким образом, ее применение заставляет тщательно изучать фенотипы. Кроме того, по мере установления признаков данной группы результаты анализа можно непрерывно пересматривать и усовершенствовать.

НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ТАКСОНОМИИ БАКТЕРИЙ

Развитие молекулярной биологии открыло ряд новых подходов к характеристике организмов, что оказало глубокое воздействие на систематику бактерий. Особую ценность представляют определенные методические приемы, которые позволяют проникнуть в генотипические свойства организмов и

тем самым дополнить их описание, носившее до сих пор исключительно фенотипический характер. Информацию о генотипе получают с помощью двух методов анализа изолированных нуклеиновых кислот: определения нуклеотидного состава ДНК и изучения химической гибридизации нуклеиновых кислот, выделенных из разных организмов.

НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ДНК: ЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ЗНАЧЕНИЕ

ДНК содержит четыре азотистых основания: аденин (А), тимин (Т), гуанин (Г) и цитозин (Ц). По правилам спаривания оснований (гл. 7) в двойной спирали ДНК $A = T$ и $G = C$. Однако для величины молярного отношения $(G + C) : (A + T)$ не существует никаких количественных ограничений. Действительно, уже в ранних химических исследованиях было показано, что это отношение в препаратах ДНК из разных организмов варьирует в довольно широких пределах, а в последующих работах было обнаружено, что нуклеотидный состав ДНК является очень важной таксономической характеристикой, особенно у микроорганизмов.

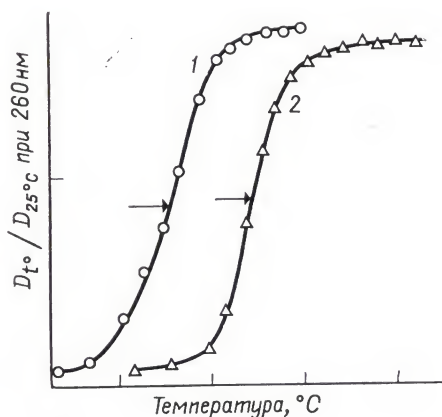
Хотя нуклеотидный состав ДНК можно определить химическими методами после гидролиза образца ДНК и разделения свободных оснований, в настоящее время для этой цели используют преимущественно более простые физические методы. «Температура плавления» ДНК (т. е. температура, при которой происходит ее денатурация в результате разрыва водородных связей, соединяющих две цепи) прямо связана с ГЦ-содержанием, поскольку число водородных связей между основаниями в парах ГЦ больше, чем между основаниями в парах АТ. Разделение цепей сопровождается заметным увеличением оптической плотности при 260 нм, т. е. в максимуме поглощения ДНК, что легко измерить на спектрофотометре. При постепенном нагревании образца ДНК поглощение увеличивается по мере разрыва водородных связей и достигает плато при температуре, при которой ДНК становится полностью одноцепочечной (рис. 16.3). Средняя точка на кривой возрастания поглощения — температура плавления ($T_{пл}$) — служит мерой ГЦ-содержания. Содержание Г+Ц в ДНК можно измерить также путем центрифугирования образца ДНК в градиенте CsCl и последующего определения оптическим методом его положения в градиенте, что позволяет точно установить величину плотности ДНК (рис. 16.4). Использование этого метода основано на том, что плотность ДНК является функцией отношения $(G + C) : (A + T)$.

Применение физических методов исследования ДНК дает возможность обнаружить также *молекулярную гетерогенность* образцов ДНК. Если бы все молекулы ДНК имели одно и то же ГЦ-содержание, то тогда и температурный ин-

Рис. 16.3. Экспериментальные кривые плавления двух образцов бактериальной ДНК. 1 — ДНК *Lactobacillus acidophilus* ($T_{пл}$ 67,7 °C); 2 — ДНК *Leptospira* sp. ($T_{пл}$ 72,1 °C). По оси ординат отложена оптическая плотность образца ДНК при 260 нм, соответствующая каж-

дому значению температуры, указанному на оси абсцисс, относительно оптической плотности при 25 °C. Средняя точка кривой увеличения поглощения (показана стрелкой) представляет собой температуру плавления ($T_{пл}$), при которой разрушается приблизительно половина

водородных связей, соединяющих цепи двойной спирали ДНК. Эта температура прямо связана с содержанием ГЦ в данном образце ДНК: чем выше содержание ГЦ, тем выше $T_{пл}$. (Данные предоставлены М. Мэнделом.)

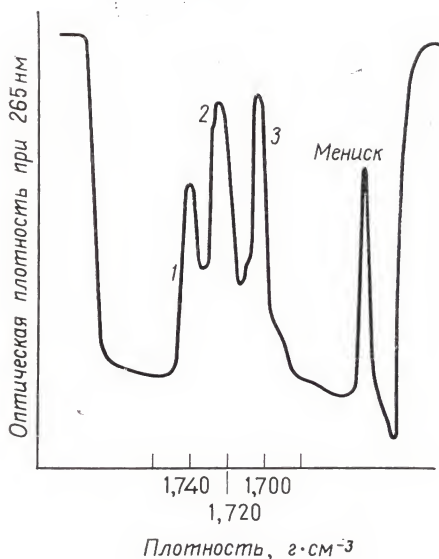


тервал кривой плавления, и полоса ДНК в градиенте CsCl были бы крайне узкими. Поэтому крутизна кривой теплового перехода и узость полосы ДНК в градиенте прямо связаны с однородностью содержания Г+Ц в популяции молекул ДНК. Даже в том случае, когда ДНК значительно фрагментирована под действием гидродинамических сил, большинство препаратов, полученных из различных организмов, сохраняет относительную гомогенность по этим критериям, что указывает на незначительное изменение среднего содержания ГЦ в различных участках генома. Единственным исключением являются препараты ДНК, выделенные из организмов, обладающих двумя генетическими элементами с различным содержанием Г+Ц. Так, в препаратах из некоторых эукариотических организмов ДНК митохондрий или хлоропластов может заметно отличаться по содержанию Г+Ц от ядерной ДНК; значительная молекулярная гетерогенность ДНК иногда обнаруживается у бактерий, имеющих плазмиды. В таких случаях минорный компонент может давать отдельную *сателлитную полосу* в градиенте CsCl; это явление послужило той путеводной нитью, которая привела к открытию ДНК в митохондриях и хлоропластах.

Рис. 16.4. Расположение полос ДНК в градиенте плотности CsCl после центрифугирования трех разных препаратов ДНК с различным содержанием ГЦ. 1 — ДНК бактериофага *Bacillus subtilis*; 2 — ДНК *Thiobacillus novellus*; 3 — ДНК

Leptospira sp. Видно, что эти три ДНК четко разделяются при центрифугировании и каждая из них занимает в градиенте плотности CsCl полосу, соответствующую содержанию в ней ГЦ: чем ниже содержание ГЦ в данной ДНК, тем

ниже плотность, при которой расположена ее полоса. Порядок содержания ГЦ в этих трех ДНК следующий: фag *B. subtilis* > *T. novellus* > *Leptospira* sp. (Данные предоставлены (М. Мэнделом.)

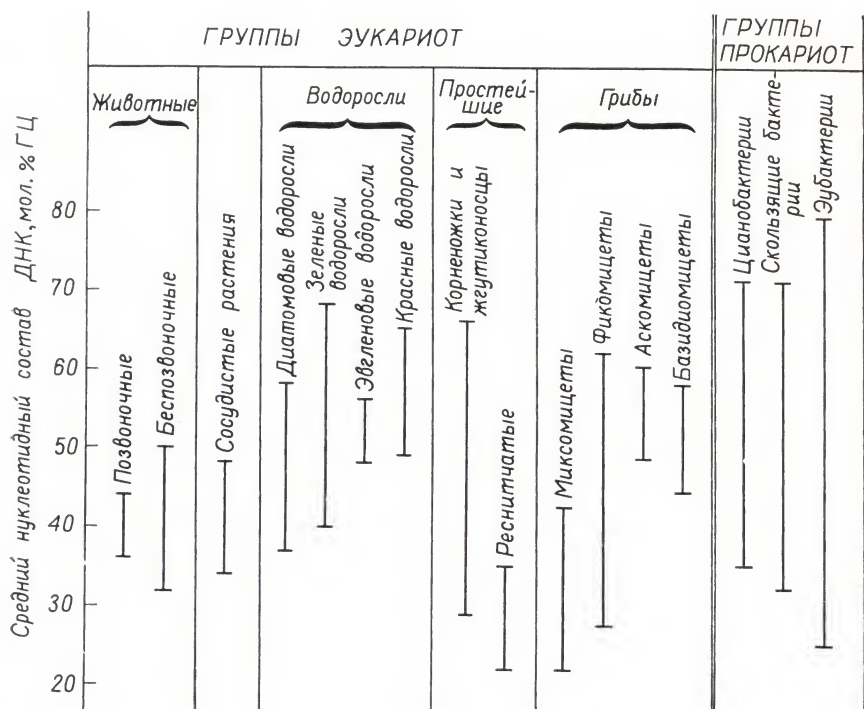


Поскольку ни один из препаратов ДНК не обладает абсолютной молекулярной гомогенностью, содержание ГЦ всегда является *средней* величиной и соответствует пику обычной кривой распределения.

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НУКЛЕОТИДНОГО СОСТАВА ДНК

Средний нуклеотидный состав ДНК, характерный для ядерной ДНК основных групп организмов, представлен на рис. 16.5. Как у растений, так и у животных содержание ГЦ варьирует в относительно узких и весьма сходных пределах, концентрируясь вокруг величины 35—40 мол.%. У протистов эти пределы значительно шире. Наибольшее разнообразие в содержании ГЦ наблюдается в группе прокариот, у которых эта величина колеблется от 30 до 75 мол.%. Однако если определить среднее содержание ГЦ у многих различных штаммов микроорганизмов одного вида, то окажется, что эти величины очень близки или идентичны, как показывают данные для нескольких видов *Pseudomonas*, приведенные в табл. 16.2. Следовательно, каждый бактериальный вид имеет

Рис. 16.5. Пределы варьирования среднего нуклеотидного состава ДНК (молярные проценты Г + Ц), характерные для основных биологических групп.



ДНК с характерным средним содержанием ГЦ, и эту величину можно рассматривать как один из важных специфических признаков вида.

ТАБЛИЦА 16.2

ПОСТОЯНСТВО СОДЕРЖАНИЯ Г + Ц У ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, ПРИНАДЛЕЖАЩИХ К ОДНОМУ ВИДУ¹

Виды <i>Pseudomonas</i>	Число изученных штаммов	Содержание в ДНК Г + Ц, мол. % (средняя величина \pm стандартное отклонение)
<i>P. aeruginosa</i>	11	67,2 \pm 1,1
<i>P. acidovorans</i>	15	66,8 \pm 1,0
<i>P. testosteroni</i>	9	61,8 \pm 1,0
<i>P. cepacia</i>	12	67,6 \pm 0,8
<i>P. pseudomallei</i>	6	69,5 \pm 0,7
<i>P. putida</i>	6	62,5 \pm 0,9

¹ Mandel M., J. Gen. Microbiol., 43, 273, 1966.

Почему организмы так сильно различаются по среднему нуклеотидному составу их ДНК? Совершенно ясно, что данный факт нельзя объяснить с достаточным основанием различием в кодировании, поскольку существует множество данных, свидетельствующих об универсальности генетического кода. Такое разнообразие нуклеотидного состава организмов могло бы отражать различия в аминокислотном составе их клеточных белков с преобладанием в одних белках аминокислот, кодируемых триплетами, обогащенными ГЦ, а в других — аминокислот, кодируемых триплетами, обогащенными АТ. Имеются данные, которые говорят о том, что подобный фактор, действительно, играет определенную роль в появлении такого разнообразия. Кроме того, в результате вырожденности генетического кода существенные различия в среднем содержании ГЦ могли бы возникнуть даже у двух организмов с одинаковым аминокислотным составом, если бы при использовании специфических триплетов происходил их систематический отбор. В этом случае один из организмов мог бы использовать преимущественно триплеты, обогащенные ГЦ, тогда как другой организм для кодирования тех же аминокислот мог бы пользоваться в основном триплетами, обогащенными А+Т. Возможно, что оба эти фактора сыграли роль в создании биологических отклонений в отношении среднего содержания ГЦ.

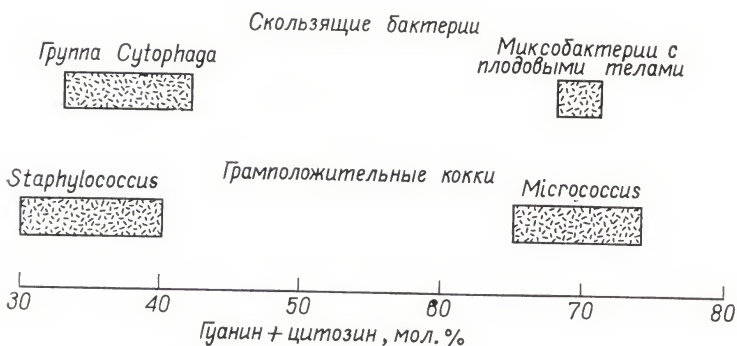
Ясно одно: *значительное расхождение в среднем значении нуклеотидного состава ДНК у двух организмов отражает большое число индивидуальных различий в специфических последовательностях оснований их ДНК.* На первый взгляд это кажется доводом в пользу существенной генетической дивергенции, а следовательно, и заметного эволюционного разделения таких организмов. В соответствии с этим очень широкий размах указанных величин, характерный для прокариот, обнаруживает большое эволюционное разнообразие данной биологической группы, а также говорит об ее эволюционной древности.

Однако два организма с одинаковым средним нуклеотидным составом ДНК могут резко различаться в генетическом отношении. Это следует из того, что величины соотношения оснований в ДНК всех растений и животных очень сходны между собой. Таким образом, значительное эволюционное разделение не обязательно выражается в отклонении среднего состава оснований. Если два организма очень близки по нуклеотидному составу их ДНК, то этот факт может быть истолкован как показатель их генетического и эволюционного родства только при том условии, что данные организмы обладают большим числом общих фенотипических признаков или генетическим сходством (в качестве примера можно привести разные штаммы, принадлежащие к одному бактериальному виду). В таком случае почти полная идентичность

Рис. 16.6. Пределы варьирования среднего нуклеотидного состава ДНК у некоторых представителей двух бактериальных групп с общими фенотипическими свойствами:

скользящих бактерий и грамположительных кокков. Большое расхождение в нуклеотидном составе ДНК между группой *Cytophaga* и миксобактериями с

плодовыми телами, а также между родами *Staphylococcus* и *Micrococcus* показывает, что они не имеют генетического родства.



нуклеотидного состава ДНК является дополнительным доказательством их генетического и эволюционного родства.

Средний нуклеотидный состав ДНК — признак, имеющий особое таксономическое значение для прокариот, так как для всей группы в целом характерно изменение этой величины в очень широких пределах. В настоящее время получены соответствующие данные для значительного числа штаммов и видов, входящих в каждую большую подгруппу прокариот. Хотя эти цифры для видов, относящихся к определенному роду, до некоторой степени различаются между собой (табл. 16.2), общий диапазон варьирования внутри бактериального рода, как правило, достаточно узок (редко превышает 10—15 мол. % содержания ГЦ) и вполне может рассматриваться как важный показатель при определении рода. Кроме того, представители некоторых групп, состоящих из многочисленных родов и на основе фенотипических признаков отнесенных к различным семействам или порядкам, оказались в ряде случаев очень близкими по нуклеотидному составу ДНК. Например, миксобактерии, образующие плодовые тела, и актиномицеты — две большие бактериальные группы — характеризуются узким диапазоном нуклеотидного состава ДНК, лежащим вблизи верхней границы шкалы содержания ГЦ.

Тем не менее стало очевидно, что некоторые группы бактерий, тесно связанные между собой в силу фенотипического сходства, в действительности генетически различны, что отражается в большом разнообразии нуклеотидного состава ДНК. Скользящие одноклеточные нефотосинтезирующие бактерии группы *Cytophaga* по строению вегетативных клеток напоминают образующих плодовые тела миксобактерий, но

находятся почти на противоположном конце шкалы Г+Ц; аналогичное положение существует среди грамположительных кокков групп *Staphylococcus* и *Micrococcus* (рис. 16.6).

ГИБРИДИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

При быстром охлаждении раствора ДНК, подвергнутой тепловой денатурации, ее одиночные цепи остаются разделенными. Однако если раствор выдерживают при температуре на 10—30°C ниже $T_{пл}$, то происходит специфическая реассоциация («отжиг») комплементарных цепей с образованием двухцепочечных молекул. При этом некоторые связи всегда возникают за счет случайного спаривания оснований, но поскольку именно комплементарные участки образуют наиболее устойчивые двойные спирали, их реассоциация оказывается предпочтительной.

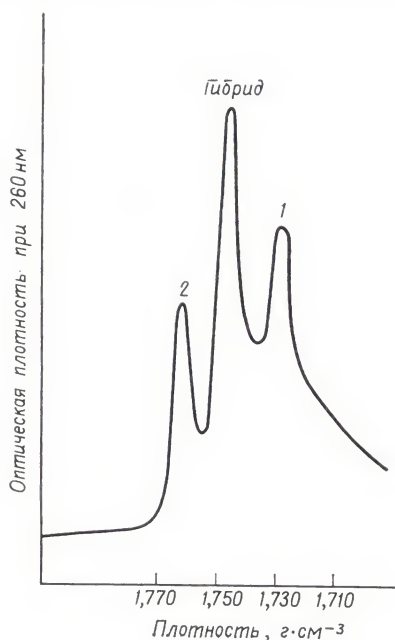
Вскоре после открытия этого явления было показано, что при смешивании и обработке описанным методом препаратов ДНК из двух родственных штаммов бактерий образуются молекулы *гибридной ДНК*. Один из этих штаммов выращивали в среде, содержащей D_2O для того, чтобы его ДНК стала «тяжелой» в результате включения дейтерия. После смешивания, денатурации и отжига полученных образцов ДНК гибридные молекулы можно было обнаружить путем центрифугирования препарата в градиенте $CsCl$, где они образуют полосы, занимающие промежуточное положение между «легкими» и «тяжелыми» молекулами двухспиральной ДНК (рис. 16.7). При проведении аналогичных экспериментов с препаратами ДНК из двух неродственных бактерий никакой гибридизации не было выявлено; после отжига двойные спирали образовались при специфическом спаривании только тех цепей, которые первоначально были получены из одной и той же ДНК.

Открытие реассоциации одноцепочечных молекул ДНК из различных биологических источников, приводящей к образованию гибридных двойных спиралей ДНК, заложило основы совершенно нового направления в изучении генетического родства бактерий. Эксперименты по реассоциации различных молекул ДНК, проведенные *in vitro*, позволяют оценить общую степень генетической гомологии двух бактерий. Кроме того, может быть осуществлена аналогичная реассоциация между молекулами ДНК и РНК, поскольку двойные спирали образуются также между одноцепочечной ДНК и комплементарными цепями РНК. Если препараты РНК состоят из тРНК или рРНК, то такие эксперименты позволяют оценить генетическую гомологию между двумя бактериями в отношении специфических и сравнительно небольших участков хромосомы, кодирующих последовательность оснований транспортных или рибосомных РНК. Как будет показано далее,

Рис. 16.7. Эксперимент, показывающий образование гибридных двойных спиралей ДНК в результате реассоциации одноцепочечных (денатурированных) молекул ДНК. ДНК выделяли из двух различных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*; штамм А был выращен в нормальной среде, а штамм В — в среде, содержащей «тяжелую» воду (D_2O) и $^{15}NH_4Cl$. Следовательно, ДНК штамма В, идентичная по нуклеотидному составу ДНК штамма А, имела более

высокую плотность за счет присутствия тяжелых атомов. Обе ДНК были выделены, денатурированы нагреванием, смешаны и подвергнуты отжигу, после чего оставшиеся одноцепочечные молекулы были удалены путем обработки специфической нуклеазой. Затем препарат центрифугировали в градиенте плотности $CsCl$, в котором выявились три пика двухцепочечной ДНК. Пик 1 соответствует «легкой» двухцепочечной ДНК, образованной при реассоциации одно-

цепочечной ДНК штамма А; пик 2 соответствует «тяжелой» двухцепочечной ДНК, образованной при реассоциации одноцепочечной ДНК штамма В. Между этими двумя пиками находится третий пик с промежуточной плотностью; он соответствует гибридной двухцепочечной ДНК, образованной при специфической реассоциации двух одиночных цепей, одна из которых получена из штамма А, а другая — из штамма В. (Данные предоставлены М. Мэнделом.)



реассоциация ДНК — рРНК представляет особый таксономический интерес.

ТЕХНИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО РЕАССОЦИАЦИИ МОЛЕКУЛ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Метод центрифугирования в градиенте плотности (рис. 16.7) слишком громоздок для повседневного использования и, кроме того, позволяет обнаружить реассоциацию только тех комп-

лементарных цепей, которые обладают очень высокой гомологией. Для измерения реассоциации молекул нуклеиновых кислот был разработан ряд более простых методов. Все они основаны на одном общем принципе: образование двойных спиралей ДНК при использовании двух разных образцов денатурированной ДНК, один из которых помечен радиоактивным изотопом; последующее отделение двойных спиралей от остаточной одноцепочечной нуклеиновой кислоты и измерение их радиоактивности. Необходимый контроль обеспечивается ДНК эталонного штамма, приготовленной как в меченом, так и в немеченом виде. Степень реассоциации этих двух гомологичных ДНК произвольно принимают за 100%. Затем можно измерить степень реассоциации эталонной ДНК с ДНК гетерологичных штаммов и выразить ее в виде процента от нормированной величины реассоциации гомологичных молекул ДНК. В зависимости от особенностей используемого метода меченой может быть эталонная или гетерологичная ДНК. Те же принципы применяются в экспериментах по реассоциации ДНК — РНК.

Простейший повсеместно используемый способ изучения реассоциации нуклеиновых кислот — это метод с применением гидроксилапатита. Гидроксилапатит представляет собой гель фосфата кальция, который при определенных условиях специфически адсорбирует только двойные спирали, но не одиночные цепи нуклеиновых кислот. Реассоциацию меченой и немеченой ДНК проводят в растворе, после чего двойные спирали адсорбируют на гидроксилапатите, который промывают затем для удаления из него одноцепочечных молекул. Адсорбированные двойные спирали элюируют путем увеличения ионной силы растворителя или повышения температуры и определяют в элюате радиоактивность. Для этого метода необходимо присутствие очень большого избытка немеченой ДНК (в несколько тысяч раз превышающего количество меченой ДНК), чтобы предотвратить реассоциацию меченых комплементарных цепей.

В эксперименте по реассоциации любого типа должны быть стандартизованы температура реассоциации, ионная сила растворителя и средняя длина фрагментов ДНК, так как все эти факторы влияют на скорость образования двойных спиралей. Если их поддерживать постоянными, реассоциация определяется только концентрацией ДНК и временем инкубации. При условии правильного выбора этих двух параметров происходит полная реассоциация комплементарных цепей.

Температура, при которой проводится реассоциация, — фактор первостепенной важности. По понятной причине эта температура всегда должна быть ниже величины $T_{пл}$ эталонной ДНК. При так называемых строгих температурах (на 10—15°C ниже $T_{пл}$) устойчивые двойные спирали обра-

зуются только из комплементарных цепей с очень высокой степенью гомологии последовательности оснований. При более низких температурах устойчивые двойные спирали могут возникать также из комплементарных цепей, содержащих меньшее число оснований, способных спариваться, и поэтому несколько менее прочно соединенных друг с другом за счет водородных связей.

Если эксперименты по реассоциации проводят при двух различных температурах, лежащих в пределах специфической области реассоциации (например, при температурах, равных $T_{пл} - 15^{\circ}\text{C}$ и $T_{пл} - 30^{\circ}\text{C}$), то можно приблизительно оценить степень гомологии последовательностей оснований между рядом гетерологичных ДНК и эталонной ДНК. В случае высокой гомологии температура мало влияет на реассоциацию; когда же происходит менее полное спаривание оснований, реассоциация заметно уменьшается при более высокой температуре (табл. 16.3).

ТАБЛИЦА 16.3

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ НА ОБРАЗОВАНИЕ ДВОЙНЫХ СПИРАЛЕЙ МЕЖДУ РАДИОАКТИВНОЙ ДНК, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ *ESCHERICHIA COLI*, И НЕМЕЧЕННЫМИ ДНК ИЗ ДРУГИХ ВИДОВ, ПРИНАДЛЕЖАЩИХ К ГРУППЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ¹

Источник ДНК	Относительное образование двойных спиралей	
	при 60°C ($T_{пл} - 30^{\circ}\text{C}$)	при 75°C ($T_{пл} - 15^{\circ}\text{C}$)
<i>E. coli</i> / <i>E. coli</i> ²⁾	100	100
<i>E. coli</i> / <i>Shigella boydii</i>	89	85
<i>E. coli</i> / <i>Salmonella typhimurium</i>	45	11
<i>E. coli</i> / <i>Enterobacter hafniae</i>	21	4

¹ Brenner D. J., Falkow S., Adv. Genetics, 16, 81 (1971).

² Контроль, в котором использована меченая и немеченая ДНК из эталонного штамма *E. coli*; величины приведены к 100.

Применение гидроксилapatитового метода позволяет оценить степень гомологии последовательностей оснований в гибридных двойных спиралах также путем определения степени их элюирования с геля в зависимости от температуры. При таком измерении получают температурный профиль элюции (рис. 16.8). 1% ошибочно спаренных оснований гибрида дает снижение $T_{пл(э)}$ приблизительно на 1°C .

Таким образом, при проведении тщательно контролируемых экспериментов по реассоциации ДНК — ДНК можно получить большой объем полуколичественной информации о степени генетической гомологии родственных штаммов или видов бактерий. Однако если в результате эволюционной ди-

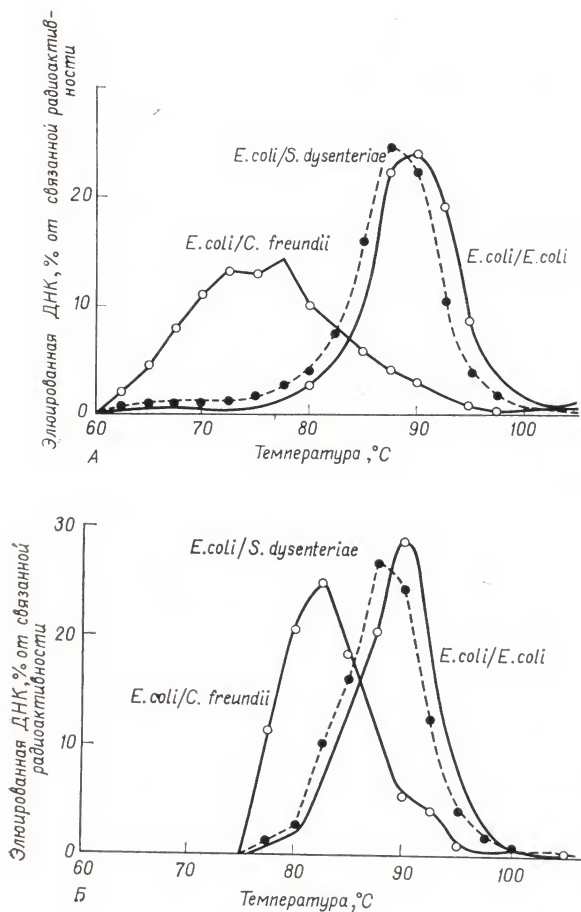


Рис. 16.8. Температурные профили элюции с гидроксипатита гибридных двойных спиралей ДНК, образовавшихся между меченой ДНК *Escherichia coli* и немечеными ДНК *E. coli*, *Shigella dysenteriae* и *Citrobacter freundii*. Относительно низкая $T_{пл(э)}$ гибридных ДНК *E. coli*/*C. freundii* указывает на значительную степень неправильного спаривания оснований. Величина $T_{пл(э)}$ гибридной ДНК *E. coli*/*S. dysenteriae* почти совпадает с аналогичной величиной для ДНК *E. coli*/*E. coli*, что указывает на гораздо более высокую степень спаривания оснований. А. Элюция двойных спиралей, образованных при температуре, равной $T_{пл}$ — 30 °С. Б. Элюция двойных спиралей, образованных при $T_{пл}$ — 15 °С. Видно, что двойные спирали *E. coli*/*C. freundii*, образованные при более высокой температуре отжига, спарены значительно лучше, чем спирали, образованные при более низкой температуре. [Brenner D., Falkow S., Adv. Genetics, 16, 81 (1971).]

вергенции в последовательностях оснований двух геномов появились многочисленные различия, то специфическая реассоциация ДНК—ДНК становится слишком слабой, чтобы быть измеренной. Параллельное изучение реассоциации ДНК—рРНК позволяет значительно расширить список организмов, у которых можно определить генетическую гомологию, благодаря тому, что на относительно небольшом участке бактериального генома, кодирующем рибосомные РНК, исходная последовательность оснований сохраняется значительно полнее, чем в основной массе хромосомной ДНК. В итоге путем реассоциации ДНК—рРНК часто можно обнаружить довольно высокую гомологию геномов двух бактерий, у которых реассоциация ДНК—ДНК не выявляет заметной гомологии (табл. 16.4).

ТАБЛИЦА 16.4

ГОМОЛОГИЯ МЕЖДУ НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ИЗ *PSEUDOMONAS ACIDOVORANS* И НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ ИЗ ЧЕТЫРЕХ ДРУГИХ ВИДОВ *PSEUDOMONAS*, ОБНАРУЖЕННАЯ ПУТЕМ ПАРАЛЛЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ГИБРИДИЗАЦИИ ДНК — ДНК И ДНК — рРНК¹

Источник нуклеиновых кислот	Относительное образование двойных спиралей	
	ДНК—ДНК	ДНК—рРНК
<i>P. acidovorans</i> / <i>P. acidovorans</i>	100	100
<i>P. acidovorans</i> / <i>P. testosteroni</i>	33	92
<i>P. acidovorans</i> / <i>P. delafieldii</i>	0	89
<i>P. acidovorans</i> / <i>P. facilis</i>	0	87
<i>P. acidovorans</i> / <i>P. saccharophila</i>	0	79

¹ Palleroni N. J., Kunisawa R., Contopoulou R., Doudoroff M., Int. J. Syst. Bacteriol., 23, 333 (1973).

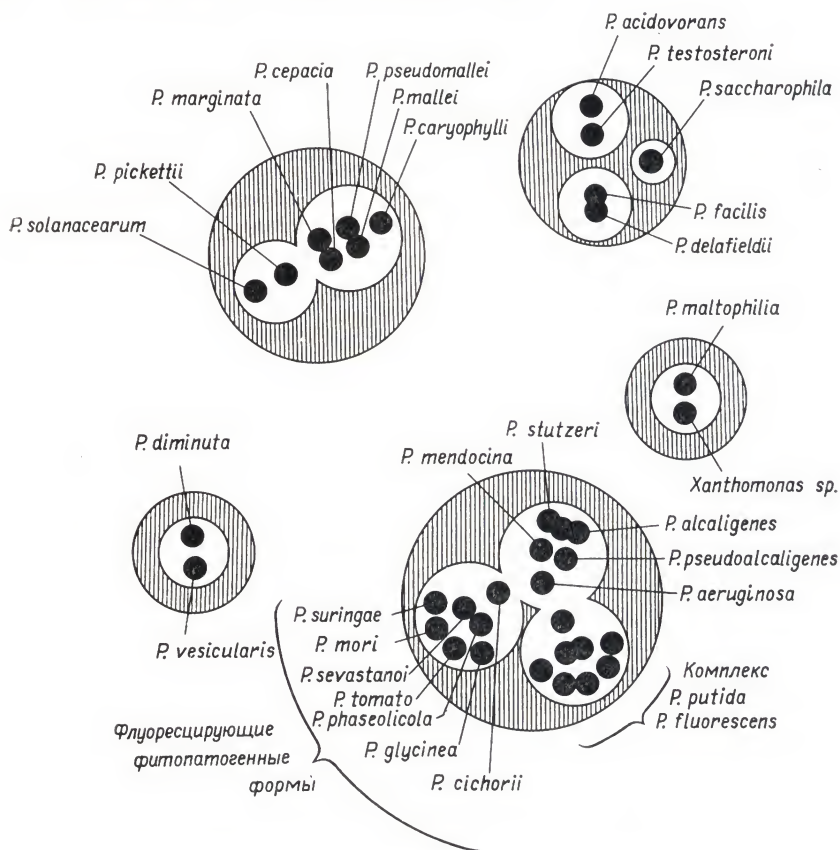
В любой группе бактерий ценность результатов, полученных в опытах по реассоциации нуклеиновых кислот, прямо пропорциональна числу изученных штаммов и видов. По-настоящему обширные сравнительные данные имеются сейчас только для двух важных групп бактерий: энтеробактерий и аэробных псевдомонад. Представления о генетических связях, существующих примерно между 30 видами аэробных псевдомонад, которые принято относить к родам *Pseudomonas* и *Xanthomonas*, схематически показаны на рис. 16.9. Каждый большой заштрихованный круг на этой диаграмме охватывает отдельную группу гомологии по рРНК. Все виды, входящие в каждую из групп, обнаруживают значительно большую степень родства друг с другом, чем с любыми видами, принадлежащими к другим группам гомологии по рРНК. Фактически межгрупповой уровень гомологии рРНК у аэробных псевдомонад не превышает уровень гомологии между ними и энтеробактерией *Escherichia coli* (рис. 16.10).

Внутри каждой группы гомологии по рРНК светлые круги меньшего размера ограничивают пределы межвидовой генетической гомологии, определяемой гибридизацией ДНК — ДНК. Можно видеть, что одна из групп гомологии по рРНК включает три отдельные группы гомологии по ДНК (*Pseudomonas acidovorans* + *P. testosteroni*; *P. saccharophila*; *P. facilis* + *P. delafieldii*). С помощью попарной гибридизации ДНК—ДНК было показано, что все виды, составляющие четыре другие группы гомологии по рРНК, генетически взаимосвязаны, хотя некоторые пары видов в пределах данной группы гомологии по ДНК могут быть в настолько дальнем родстве, что между ними нельзя установить никакой гомологии ДНК. Например, так обстоит дело для двух видов

Рис. 16.9. Схематическая диаграмма генетических связей между аэробными псевдомонадами, обнаруживаемых с помощью реассоциации нуклеиновой кислоты в опытах *in vitro*. Каждый большой заштрихованный круг представляет группу гомологии по рРНК, установленную

путем гибридизации ДНК—рРНК. Расстояние между пятью группами условны, так как их взаимосвязи неизвестны. Белые круги меньшего размера обозначают группы гомологии по ДНК. Черные кружки внутри каждого белого круга представляют виды (или биотипы), род-

ство между которыми можно показать гибридизацией ДНК—ДНК: расстояние между двумя любыми черными кружками служит приближенной мерой общей генетической гомологии. [Pal-leroni N. J. et al., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 23, 333 (1973).]

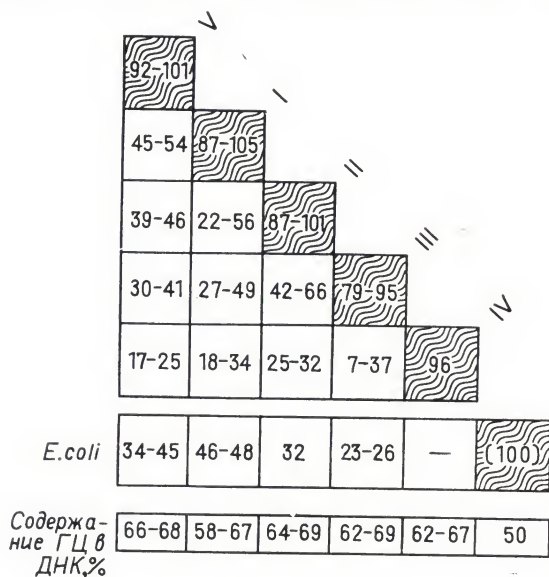


флуоресцирующих псевдомонад — *P. aeruginosa* и *P. syringae*. Однако если исходить из результатов реассоциации ДНК—ДНК, то можно заключить, что оба вида обнаруживают некоторую степень родства с третьим видом *P. fluorescens*. Другое интересное обстоятельство связано с фитопатогенными, содержащими желтый пигмент псевдомонадами, которых обычно выделяют в особый род *Xanthomonas*. Опыты по гибридизации как ДНК—рРНК, так и ДНК—ДНК пока-

Рис. 16.10. Матрица сходства, на которой представлены данные по гомологии рРНК (определяемой реассоциацией ДНК—рРНК) у 30 видов аэробных псевдомонад. Эти данные позволяют разделить рассматриваемые бактерии на пять четких гомологичных групп (I—V). Внутригрупповая гомология

(заштрихованные квадраты) составляет не менее 79%; межгрупповая гомология лежит в пределах от 7 до 66% и не намного выше, чем гомология, определяемая в экспериментах по реассоциации ДНК—рРНК между аэробными псевдомонадами и энтеробактерией *Escherichia coli*, данные для которой

также приведены на схеме. Сходство среднего нуклеотидного состава ДНК для пяти гомологичных групп (нижний ряд) показывает, что само по себе это сходство не является достаточно надежным показателем генетического родства. [Palleroni N. J. et al., Int. J. Syst. Bacteriol., 23, 333 (1973).]



зали, что они образуют группу гомологии с генетически изолированным в других отношениях видом *Pseudomonas* — *P. maltophilia*.

СРАВНЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОТИПОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Внутри бактериальных групп, в которых обнаружен перенос генетической информации посредством трансдукции, трансформации или конъюгации, можно изучать межвидовые (а иногда и межродовые) взаимоотношения на генетическом уровне с помощью соответствующего метода биологической гибридизации. Осуществлению межвидовой гибридизации могут препятствовать внешние барьеры: например, различия в структуре поверхности клеток, что мешает их конъюгации или необходимому для трансдукции прикреплению фага; та-

ким же препятствием является ферментативное расщепление «чужой» ДНК после ее проникновения в клетку в результате рестрикции со стороны хозяина (гл. 15). Поэтому невозможность обнаружить гибридизацию еще не исключает генетической гомологии, если только не будет показано отсутствие внешних барьеров, препятствующих гибридизации.

Биологическая гибридизация представляет собой включение путем рекомбинации фрагмента ДНК, полученного от донора, в хромосому реципиента. Она служит значительно более точным мерилем уровня генетической гомологии, чем гибридизация *in vitro*, поскольку включение каждого отдельного фрагмента молекулы ДНК донора зависит от степени его гомологии с ДНК реципиента именно в том небольшом специфическом участке хромосомы, в котором должна произойти рекомбинация. Скорость эволюции различных генов в организме может существенно различаться. Поскольку гибридизацию обнаруживают, исследуя включение в геном реципиента специфического маркера, результаты, полученные для данной пары штаммов донора и реципиента, могут заметно различаться в зависимости от природы гена, выбранного в качестве маркера. Это было очень ясно показано в экспериментах по межштаммовой гибридизации у *Bacillus*: включение донорного маркера устойчивости к стрептомицину всегда происходило со значительно большими частотами, чем включение донорных маркеров, связанных с питанием (табл. 16.5).

ТАБЛИЦА 16.5

ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАРКЕРА НА ЧАСТОТУ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ, НАБЛЮДАЕМОЙ ПРИ МЕЖШТАММОВОЙ И МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ, ПРОИСХОДЯЩЕЙ В ПРОЦЕССЕ ТРАНСФОРМАЦИИ¹

Штамм-донор	Относительная частота трансформации, приведенная к величинам, полученным с гомологичным донором		
	стрептомицин	триптофан	лейцин
<i>B. subtilis</i> 168-2 (гомологичный)	1,0	1,0	1,0
<i>B. subtilis</i> 6633	0,6	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$
<i>B. subtilis</i> var <i>niger</i>	0,54	$<5 \cdot 10^{-5}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$
<i>B. pumilus</i>	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$
<i>B. licheniformis</i>	$4 \cdot 10^{-3}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$
<i>B. megaterium</i>	$<2 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$
<i>B. polymyxa</i>	$<2 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$	$<5 \cdot 10^{-5}$

¹ Стрептомициночувствительный штамм *B. subtilis* 168-2, нуждающийся в триптофане и лейцине в качестве факторов роста, трансформировали в стрептомициноустойчивый или независимый от факторов роста с помощью ДНК из нескольких различных доноров (все они были стрептомициноустойчивыми и прототрофными в отношении этих двух аминокислот). [Dubnau D., Smith I., Morell P., Marmur J., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 54, 491 (1965)].

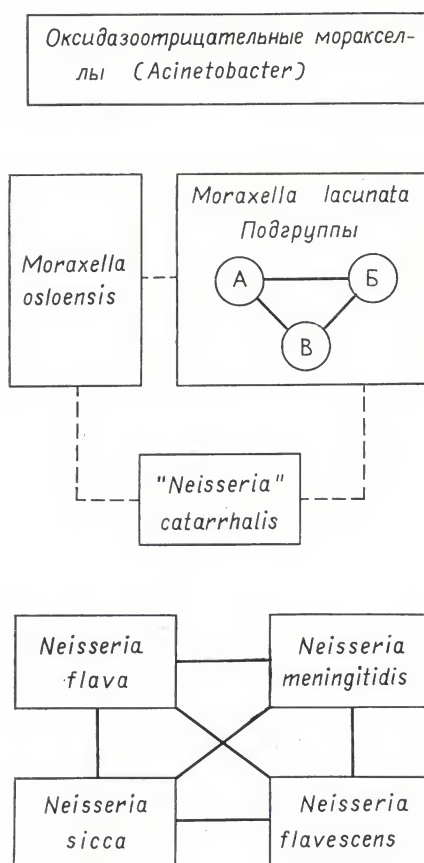


Рис. 16.11. Упрощенная диаграмма, иллюстрирующая генетические связи между группами *Moraxella* и *Neisseria*, вытекающие из исследований частот трансформации с использованием специфического генетического маркера — устойчивости к стрептомицину. Сплошные линии, соединяющие прямоугольники или круги, обозначают межгрупповые частоты трансформации, составляющие 10^{-2} — 10^{-3} частот, наблюдаемых внутри каждой группы; пунктирные линии соответствуют частотам трансформации, составляющим 10^{-3} — 10^{-5} внутригрупповых частот. Отсутствие соединительных линий означает, что межгрупповые трансформации не обнаружены. Можно видеть, что исходя из этого критерия «*Neisseria» catarrhalis*, по-видимому, более тесно связана с видами *Moraxella*, чем с другими видами *Neisseria*, к которым она отнесена на основе морфологического сходства (кокковидной формы клеток).

Особенно широкие исследования гибридизации ДНК путем трансформации с использованием в качестве маркера фактора устойчивости к стрептомицину были проведены среди грамотрицательных бактерий группы *Neisseria* — *Moraxella*; некоторые из этих данных суммированы на рис. 16.11. Подобные эксперименты в значительной степени прояснили генетические связи внутри изучаемой группы. Хотя у большинства кокковидных представителей *Neisseria* обнаруживаются тесные генетические взаимосвязи, один из видов *N. catarrhalis* генетически изолирован от остальных и фактически более близок в генетическом отношении к некоторым палочковидным организмам рода *Moraxella*. Внутри группы *Moraxella* виды, установленные на основе фенотипических свойств, по-видимому, соответствуют четко выявляемым генетическим единицам, так как внутривидовые частоты трансформации значительно превышают межвидовые частоты.

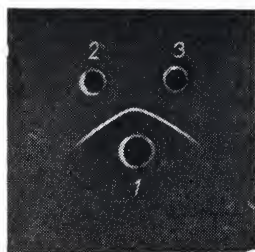


Рис. 16.12. Использование метода двойной диффузии в агаровом геле для проведения реакции антиген — антитело между антисывороткой против чистого бактериального белка и гомологичным антигеном. Лунка, обозначенная 1 содержала антисыворотку против чистого фикоцианина — хромопротеида, выделенного из цианобактерии *Aphanocapsa* sp. В одной из двух лунок, содержащих антигены, находился чистый фикоцианин (2), а в другой (3) — сырой экстракт из

клеток *Aphanocapsa* sp. Между каждой лункой с антигеном и лункой с антителами образовалась единственная тонкая линия преципитации (состоящая из осадка специфического комплекса антиген — антитело), причем обе линии полностью слились друг с другом. Антисыворотка была специфична в отношении фикоцианина и не содержала антител, направленных против каких либо других белков, присутствовавших в сыром бесклеточном экстракте.

ИЗУЧЕНИЕ РОДСТВА НА УРОВНЕ ТРАНСЛЯЦИИ ГЕНОВ

Обширная информация о взаимном родстве бактерий может быть получена при изучении клеточных белков — продуктов трансляции генов. Поскольку аминокислотная последовательность белка прямо отражает последовательность оснований кодирующего его гена, эволюционная дивергенция в отношении последовательности оснований ведет к дивергенции аминокислотной последовательности соответствующего белка. Эти изменения часто выражаются в сдвигах иммунологических свойств белков, которые можно легко обнаружить достаточно простыми методами.

Белок имеет множество различных антигенных детерминант, каждая из которых отражает специфическую особенность его молекулярной структуры (например, короткой последовательности аминокислот). Антисыворотка против чистого белка (например, бактериального фермента) содержит антитела против каждой из этих антигенных детерминант. Антисыворотку тестируют следующим образом: ее помещают в агаровый гель, через который она диффундирует в направлении образца сырого экстракта бактериальных клеток, содержащего исследуемый фермент; в зоне взаимодействия антиген — антитело появляется отдельная тонкая линия осадка, или преципитата (рис. 16.12). Образуется только одна линия, потому что все многочисленные антигенные детерминанты находятся в молекулах одного фермента, диффундирующих через гель с одинаковой скоростью.

При сравнении методом двойной диффузии гомологичного антигена (H), против которого приготовлена антисыворотка, с гетерологичным антигеном h (т. е. белком той же природы, но полученным из другого организма) возможно появление

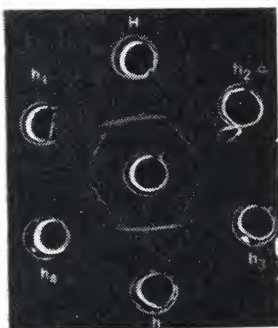
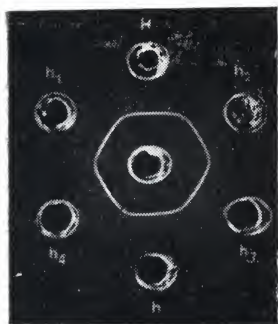


Рис. 16.13. Использование метода двойной диффузии для сравнения реакций антисыворотки с гомологичным антигеном и с серией гетерологичных антигенов. Антисыворотка (центральная лунка) была приготовлена против очищенной D - лактатдегидрогеназы *Lactobacillus leichmannii* и испытана в отношении сырых экстрактов, полученных из клеток этой бактерии (лунка, обозначенная Н) и четырех других бактериальных штаммов (лунки, обозначенные h_1 , h_2 , h_3 и h_4), принадлежащих к видам *L. bulgaricus*, *L. lactis* и *L. delbrueckii*. Наблюдается полное слияние линий преципитации между Н, h_1 , h_2 , h_3 и h_4 ; это означает, что все антигенные детерминанты, содержащиеся в D-лактатдегидрогеназе *L. leichmannii*, присутствуют также и в D-лактатдегидрогеназах трех других изученных видов. [Gasser F., Gasser C., Immunological relationships among lactic dehydrogenases in the Genera *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, *J. Bact.*, 106, 113 (1971).]

Рис. 16.14. Использование метода двойной диффузии для сравнения реакций антисыворотки с гомологичным антигеном и с серией гетерологичных антигенов. Антисыворотка (центральная лунка) против D-лактатдегидрогеназы из *Lactobacillus leichmannii* была испытана против сырых экстрактов, полученных из клеток этой бактерии (лунка, обозначенная Н) и четырех различных штаммов *Lactobacillus fermenti* (лунки h_1 , h_2 , h_3 , h_4). Между Н и каждым из гетерологичных антигенов h_1 — h_4 образуются ответвления, направленные в сторону лунок, содержащих гетерологичные антигены. Это означает, что D-лактатдегидрогеназа *L. fermenti* несет некоторые, но не все антигенные детерминанты, связанные с ферментом из *L. leichmannii*. (Фото предоставлено Ф. Гассером.)

двух картин преципитации (если принять, что Н и h обладают некоторыми общими антигенными детерминантами). Полное слияние линий преципитации (рис. 16.13) означает, что все антигенные детерминанты являются общими для обоих антигенов. Частичное слияние, сопровождающееся образованием так называемой шпоры, или ответвления, направленного в сторону лунки, содержащей h (рис. 16.14), показывает, что Н и h имеют некоторые общие антигенные участки, но в Н находится один или несколько участков, отсутствующих в h.

Если аналогичным образом сравнивают с помощью антисыворотки против Н два гетерологичных антигена h_1 и h_2 , то возможно возникновение трех картин преципитации. Полное слияние двух линий преципитации означает, что h_1 и h_2 идентичны и обладают общими с Н антигенными участками. Образование ответвления, направленного в сторону h_1 , пока-

зывает, что h_2 имеет по крайней мере один дополнительный участок, общий с Н, но отсутствующий в h_1 . Таким образом, попарное сопоставление гетерологичных антигенов, образующих ответвления, направленные друг против друга, позволяет установить порядок снижения антигенного сходства с Н: $H > h_2 > h_1$ и т. д.

Иногда могут образоваться двойные ответвления, направленные в сторону и h_1 , и h_2 . В этом случае наряду с антигенными участками, общими для Н, h_1 и h_2 , существуют антигенные участки, общие только для Н и h_1 или Н и h_2 .

Такой подход к исследованию сходства белков широко применяется при изучении некоторых групп бактерий, особенно молочнокислых. Все эти организмы образуют НАД-зависимые лактатдегидрогеназы (ЛДГ), специфичные либо для D-, либо для L-лактата. Одни виды содержат только D-ЛДГ, другие — только L-ЛДГ, а третьи — оба типа ЛДГ.

В табл. 16.6 показана степень иммунологической перекрестной реактивности D-ЛДГ и L-ЛДГ молочнокислых бак-

ТАБЛИЦА 16.6

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕКРЕСТНЫЕ РЕАКЦИИ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ЭКСТРАКТАМИ ИЗ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ БАКТЕРИЙ¹

Бактерии	Присутствие НАД-зависимых лактатдегидрогеназ		Перекрестные реакции с антисывороткой, приготовленной против	
	D	L	D-лактатдегидрогеназы <i>L. leichmannii</i>	L-лактатдегидрогеназы <i>L. acidophilus</i>
Молочнокислые бактерии				
<i>Lactobacillus:</i>				
<i>leichmannii</i>	+	—	+	—
<i>delbrueckii</i>	+	—	+	—
<i>lactis</i>	+	—	+	—
<i>bulgaricus</i>	+	—	+	—
<i>jensenii</i>	+	—	+	—
<i>acidophilus</i>	+	+	+	+
<i>jugurti</i>	+	+	+	+
<i>salivaricus</i>	—	+	—	+
<i>casei</i>	—	+	—	+
<i>Leuconostoc</i> spp.	+	—	+	—
<i>Streptococcus</i> spp.	—	+	—	—
<i>Pediococcus</i> spp.	+	—	—	—
Другие бактерии				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	—	+	—	—
<i>Butyribacterium rettgeri</i>	+	—	—	—

{
 Перекрестно реагирующие лактатдегидрогеназы
 {
 Неперекрестно реагирующие лактатдегидрогеназы

¹ Проведены с антисыворотками против D-лактатдегидрогеназы и L-лактатдегидрогеназы, выделенных в очищенном состоянии из двух разных лактобацилл.

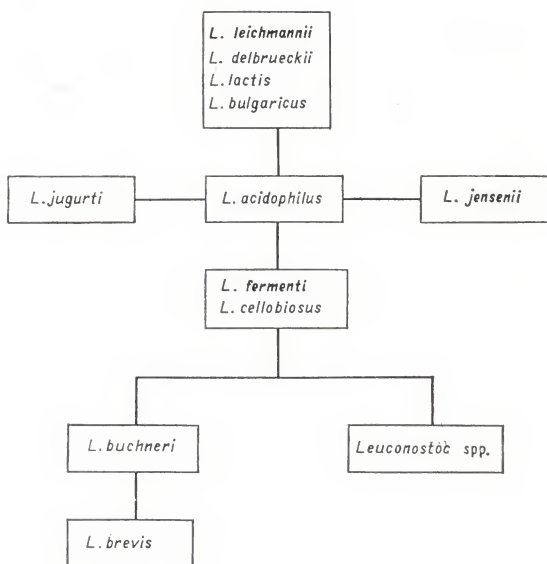


Рис. 16.15. Карта, показывающая антигенные взаимосвязи между D-лактатдегидрогеназами из различных видов *Lactobacillus* и *Leuconostoc*, обнаруживаемые с помощью перекрестных реакций с антисыворотками, приготовленными против ферментов из трех видов бактерий, обозначенных жирным шрифтом. Все виды *Lactobacillus*, находящиеся внутри каждого прямоугольника, аналогичны (или очень похожи) по антигенным свойствам. [Gasser F., Gasser C., Immunological relationships among lactic dehydrogenases in the genera *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, J. Bact., 106, 113 (1971).]

терий, определенная с помощью специфических антисывороток против D-ЛДГ и L-ЛДГ, которые были приготовлены при использовании чистых ферментов, выделенных из двух видов *Lactobacillus*. Можно видеть, что перекрестные реакции между сырыми экстрактами, полученными из *Lactobacillus*, и этими двумя антисыворотками коррелируют с присутствующими в экстрактах ферментативными активностями: например, экстракты, обладающие только активностью D-ЛДГ, реагируют соответственно лишь с анти-D-ЛДГ. Все D-ЛДГ из *Lactobacillus*, так же как и D-ЛДГ из *Leuconostoc*, дают иммунологические перекрестные реакции. Подобным же образом все L-ЛДГ из других видов *Lactobacillus* тоже являются перекрестно реагирующими белками. Однако ЛДГ из бактерий, принадлежащих к другим видам, не реагируют ни с одной из антисывороток. Отсутствие реакции могло бы означать, что ЛДГ из этих бактерий представляют собой белки, либо совершенно не связанные с аналогичными белками лактобацилл, либо претерпевшие настолько глубокую дивергенцию путем последовательного замещения аминокислот, что они уже больше не содержат каких-либо общих антигенных детерминант.

Были также приготовлены и использованы для сравнительных иммунологических исследований две антисыворотки против D-ЛДГ других видов *Lactobacillus*. Результаты, полученные при совместном применении всех трех антисывороток, позволяют построить карту, показывающую антигенное родство D-ЛДГ из многих видов *Lactobacillus* и *Leuconostoc*.

(рис. 16.15). Если принять, что изменения аминокислотной последовательности разных ЛДГ происходят примерно с одинаковой скоростью, то подобная карта дает приблизительное представление об эволюционных расстояниях между исследуемыми видами. Аналогичные карты антигенного родства между молочнокислыми бактериями были получены путем сравнительных иммунологических исследований двух других ферментов, общих для многих видов этой группы (альдолазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы). За небольшими исключениями, эти карты согласуются со схемой, созданной на основе реакций Д-ЛДГ с соответствующими антисыворотками. Поэтому кажется вероятным, что дивергенция большинства ферментов внутри бактериальной группы происходит со сходными скоростями.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КАК МАРКЕРЫ РОДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ

Недавние сравнительные исследования способов регуляции путей биосинтеза и диссимиляции, общих для многих бактериальных групп, дают основания предположить, что специфический механизм регуляции данного пути является консервативным свойством, характерным для данной группы бактерий. Ярким примером служит регуляция двух разветвленных биосинтетических путей, один из которых приводит к синтезу ароматических аминокислот, а другой — к синтезу аспарагиновой кислоты и ее производных. В обоих случаях первичным местом регуляции (посредством механизма репрессии синтеза ферментов и механизма ингибирования активности ферментов по принципу обратной связи) является первый фермент пути: синтетаза фосфодезоксиарабиногептулоновой кислоты (ФДАГ-синтетаза) в пути биосинтеза ароматических аминокислот и аспартокиназа (АК) в пути биосинтеза аспарагиновой кислоты.

В клетках *Escherichia coli* и родственных энтеробактерий содержатся три изофункциональные ФДАГ-синтетазы и три изофункциональные АК, причем каждый из этих ферментов подвергается репрессии или ингибированию по принципу обратной связи специфическим конечным продуктом данного пути. У большинства до сих пор изученных бактерий первая реакция каждого пути катализируется одним ферментом, подвергающимся воздействию различных и, как правило, более сложных способов регуляторного контроля конечными продуктами. Поэтому осуществление двух указанных реакций с помощью изофункциональных ферментов, каждый из которых находится под независимым регуляторным контролем, по-видимому, является характерным признаком группы энтеробактерий. Известна еще только одна группа бактерий с аналогичным механизмом регуляции — это факультативно анаэробные грамотрицательные бактерии с полярными жгу-

тиками (роды *Vibrio*, *Aeromonas*, *Beneckeia* и *Photobacterium*). Если не считать иного, чем у классических энтеробактерий, места прикрепления жгутика, эти бактерии имеют много признаков, указывающих на их связь с группой энтеробактерий (гл. 20). Общность механизмов регуляции путей биосинтеза ароматических аминокислот и аспарагиновой кислоты является доказательством родства этих групп.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КЛАССИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ

Разработанные недавно молекулярные подходы к анализу взаимосвязей между бактериями служат очень ценным дополнением к установленным ранее чисто фенотипическим характеристикам бактерий. В настоящее время среди бактерий можно выделить значительное число подгрупп, которые, по-видимому, являются естественными в том смысле, что все их представители имеют общее эволюционное происхождение. Многие из этих групп (например, энтеробактерии, некоторые гомологичные группы аэробных псевдомонад) состоят из большого числа видов, легко различимых как по фенотипическим, так и по генотипическим критериям. Часто бывает желательно относить такие виды к разным родам, объединяемым в свою очередь в совокупность, состоящую из многих родов, например семейство. Так, семейство *Enterobacteriaceae* объединяет различные роды энтеробактерий.

Следовательно, в определенных пределах для бактерий можно построить иерархическую систему классификации традиционного типа. Однако если не считать фундаментальных свойств, общих для всех прокариотических клеток, то бактерии представляют собой совокупность организмов, обладающих очень большим разнообразием; к тому же их основные структурные и функциональные признаки часто слабо коррелируют друг с другом. Поэтому все многочисленные попытки создать полную иерархическую классификацию этих организмов оказались неудовлетворительными. В каждом последующем издании «Руководства Берги по определению бактерий», ставшего главным пособием по бактериальной таксономии со времени его опубликования в 1923 г., состав и распределение высших таксономических группировок — порядков, семейств и триб — существенно изменялись. Наконец, в недавно опубликованном (1974 г.) восьмом издании был принят более эмпирический подход. Все бактерии подразделены на 19 частей, различающихся на основании нескольких легко устанавливаемых критериев и носящих общеупотребительные названия. В одних частях составляющие их виды описаны в случайной последовательности, в других — они сгруппированы в семейства, а иногда в порядки. Фактически такое расположение является частично, или фрагментарно,

иерархическим. Иллюстрацией трудностей, связанных с установлением иерархии среди бактерий, является то, что несколько частей, в которых роды сгруппированы в семейства, содержат также приложения, озаглавленные «Роды неопределенной систематической принадлежности». Они состоят из родов, не соответствующих даже той ограниченной иерархии, которая лежит в основе данной классификации.

Задача определителя Берги — облегчить идентификацию бактерий, поэтому почти не имеет значения, как именно распределены в нем роды, при условии что существует эффективная система ключей для определения родовой принадлежности неизвестного организма. Для этой цели в восьмое издание введен детальный множественный ключ, который является наиболее ценной его особенностью.

Просто для того, чтобы ознакомить читателя с общей системой, принятой в восьмом издании определителя Берги, ниже приводится краткий перечень этих 19 частей.

Царство прокариот

Отдел I. Цианобактерии (далее не рассматриваются)

Отдел II. Бактерии

Часть 1. Фототрофные бактерии

1 порядок, 3 семейства, 18 родов

Часть 2. Скользящие бактерии

2 порядка, 8 семейств, 21 род, а также 6 родов неопределенной систематической принадлежности

Часть 3. Хламидобактерии (бактерии, имеющие чехлы, или влагалища) 7 родов

Часть 4. Почкующиеся и (или) стебельковые бактерии
17 родов

Часть 5. Спирохеты

1 порядок, 1 семейство, 5 родов

Часть 6. Спиральные и изогнутые бактерии

1 семейство, 2 рода, а также 4 рода неопределенной систематической принадлежности

Часть 7. Грамотрицательные аэробные палочки и кокки
5 семейств, 14 родов, а также 6 родов неопределенной систематической принадлежности

Часть 8. Грамотрицательные факультативно анаэробные палочки
2 семейства, 17 родов, а также 9 родов неопределенной систематической принадлежности

Часть 9. Грамотрицательные анаэробные бактерии

1 семейство, 3 рода, а также 6 родов неопределенной систематической принадлежности

- Часть 10. Грамотрицательные кокки и коккобациллы
1 семейство, 4 рода, а также 2 рода неопределенной систематической принадлежности
- Часть 11. Грамотрицательные анаэробные кокки
1 семейство, 3 рода
- Часть 12. Грамотрицательные хемолитотрофные бактерии
2 семейства, 17 родов
- Часть 13. Метанобразующие бактерии
1 семейство, 3 рода
- Часть 14. Грамположительные кокки
3 семейства, 12 родов
- Часть 15. Палочки и кокки, образующие эндоспоры
1 семейство, 5 родов, а также 1 род неопределенной систематической принадлежности
- Часть 16. Грамположительные палочковидные бактерии, не образующие эндоспор
1 семейство, 1 род, а также 3 рода неопределенной систематической принадлежности
- Часть 17. Актиномицеты и родственные организмы
4 рода, не отнесенные к каким-либо семействам; 1 семейство с 2 родами; 1 порядок с 8 семействами и 31 родом
- Часть 18. Риккетсии
2 порядка, 4 семейства, 18 родов
- Часть 19. Микоплазмы
1 класс, 1 порядок, 2 семейства, 2 рода, а также 2 рода неопределенной систематической принадлежности

В следующих главах (с 17 по 24) рассмотрены свойства некоторых главных групп бактерий. Принятое расположение материала в определенной степени соответствует структуре последнего издания определителя Берги, но значительно упрощено и иногда объединяет группы, которые рассматриваются в разных частях определителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Ainsworth G. C., Sneath P. H. A. (eds.) (1962), Microbial Classification, Twelfth Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge, England, University Press.*
- Buchanan R. E., Gibbons N. E. (eds.) (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. Baltimore, Williams and Wilkins.*
- Lockhart W. R., Liston J. (eds.) (1970), Methods for Numerical Taxonomy, Bethesda, Md., American Society for Microbiology.*
- Martin S. M., Skerman V. B. D. (eds.) (1972), World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms, New York, Wiley Interscience.*

- Skerman V. B. D.*, 1967, A Guide of the Identification of the Genera of Bacteria, 2nd ed., Baltimore, Williams and Wilkins Co.
- Sneath P. H. A., Sokal R. R.*, 1973, The Principles and Practices of Numerical Classification, Freeman.

Обзоры и оригинальные работы

- Brenner R. J., Falkow S.* (1971), Molecular Relationships Among Members of the Enterobacteriaceae, *Adv. Genetics*, **16**, 81.
- Gasser J., Gasser C.* (1971), Immunological Relationships Among Lactic Dehydrogenases in the Genera *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, *J. Bact.*, **106**, 113.
- Jones D., Sneath P. H. A.* (1970), Genetic Transfer and Bacterial Taxonomy, *Bact. Revs.*, **34**, 40.
- London J., Kline K.* (1973), Aldolase of Lactic Acid Bacteria: A Case History in the Use of an Enzyme as an Evolutionary Marker, *Bact. Revs.*, **37**, 453.
- Mandel M.* (1969), New Approaches to Bacterial Taxonomy, *Ann. Rev. Microbiol.*, **23**, 239.
- Palleroni N. J., Kunisawa R., Contopoulou R., Doudoroff M.* (1973), Nucleic Acid Homologies in the Genus *Pseudomonas*, *Int. J. System. Bact.*, **23**, 333.
- Sneath P. H. A.* (1972), Computer Taxonomy, in J. R. Norris and D. W. Ribbons (eds.), *Methods in Microbiology*, **7A**, 29, New York, Academic Press.

К грамотрищательным прокариотам относятся три четко различающиеся группы фотосинтезирующих организмов. Это *цианобактерии*, *пурпурные бактерии* и *зеленые бактерии*. Цианобактерии осуществляют кислородный (т. е. сопровождающийся выделением кислорода) фотосинтез и обладают пигментной системой, которая в принципе аналогична системе у фотосинтезирующих эукариот. Ботаники долгое время считали эту группу одним из основных классов или типов водорослей. Однако примерно в 1960 г. было твердо установлено, что структура клеток этих организмов типична для прокариот, так что они вне всякого сомнения относятся к бактериям. Как уже отмечалось в гл. 5, эта большая и разнообразная в структурном отношении группа включает много различных нитчатых и одноклеточных организмов. Подвижные формы перемещаются посредством скольжения.

Пурпурные и *зеленые бактерии* осуществляют анакисгенный (т. е. не сопровождающийся выделением кислорода) фотосинтез и обладают уникальными пигментными системами, благодаря чему по своим спектральным характеристикам они отличаются от других фототрофов. Все эти бактерии, за немногими исключениями, являются одноклеточными. Большинство зеленых бактерий представляют собой мелкие, неподвижные палочковидные организмы. Пурпурные бактерии бывают палочками, кокками или спиралями и часто перемещаются с помощью жгутиков. Поскольку по своей структуре эти организмы сходны с нефотосинтезирующими бактериями, их таксономическое положение никогда не вызывало сомнений — с момента открытия в середине XIX в. они были отнесены к бактериям. Однако природа метаболизма у пурпурных и зеленых бактерий в течение многих десятилетий оставалась спорной.

Примерно в 1885 г. В. Энгельман (W. Engelmann) обнаружил, что пурпурные бактерии обладают фототаксисом и что их рост стимулируется освещением. На основании этого он предположил, что данные бактерии могут осуществлять фотосинтез. Неоднократные попытки показать, что пурпурные бактерии образуют на свете кислород, не увенчались успехом. Одно время такой отрицательный результат рассматривался как веский довод против гипотезы Энгельмана. К тому же, как показал Виноградский, некоторые пурпурные бактерии могут окислять H_2S до сульфата, временно накапливая в клетках элементарную серу. Этим необычным свойством обладали также и некоторые хемоавтотрофные бакте-

рии (гл. 18). Примерно в 1905 г. В. Молиш (W. Molisch) обнаружил, что другие пурпурные бактерии могут расти на сложных органических средах как на свету, так и в темноте и что они не окисляют H_2S . Казавшиеся на первый взгляд противоречащими друг другу данные Энгельмана, Виноградского и Молиша оставались необъясненными вплоть до 1930 г., когда К. ван Нил (C. V. van Niel) впервые выявил различные варианты метаболизма при аноксигенном фотосинтезе и показал, что как пурпурные, так и зеленые бактерии получают энергию с помощью такого процесса.

Итак, как мы видим, сложная история изучения фотосинтезирующих прокариот отмечена рядом ошибочных суждений относительно как их таксономического положения, так и особенностей метаболизма. Новая глава к этой истории была добавлена в 1971 г. В. Стокениусом (W. Stoeckenius), который обнаружил у давно известных и до того считавшихся хемогетеротрофами бактерий уникальный процесс зависящего от света синтеза АТФ. Эти организмы, крайние галофилы рода *Halobacterium*, синтезируют особый каротиноид, который претерпевает фотохимические превращения, непосредственно сопряженные с образованием АТФ. Реакция *Halobacterium* на освещение будет описана в последнем разделе этой главы.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПРОКАРИОТ

В табл. 17.1 и 17.2 суммированы некоторые из основных особенностей механизма фотосинтеза у пурпурных, зеленых и цианобактерий. В эти таблицы для сравнения включены также данные, касающиеся хлоропластов двух основных групп водорослей.

Из таблиц видно, насколько велико сходство фотосинтезирующего аппарата у цианобактерий и эукариот, особенно у красных водорослей. Цианобактерии и красные водоросли обладают рядом уникальных функциональных свойств: единственным хлорофиллом у них является хлорофилл *a*; основными поглощающими свет пигментами у обеих групп являются хромопротеиды, которые называются *фикобилипротеидами*. Эти хромопротеиды не интегрированы у них в тилакоидах, как хлорофиллы и каротиноиды, а локализованы в особых структурах, называемых *фикобилисомами* и прикрепленных к внешней поверхности тилакоидов.

Пурпурные и зеленые бактерии отличаются от других фототрофов почти по всем перечисленным в таблицах признакам. Внутриклеточная локализация фотосинтезирующего аппарата уникальна для каждой группы. У пурпурных бактерий этот аппарат включен в клеточную мембрану, а у зеленых бактерий он находится в специальных органеллах, хлороби-

ТАБЛИЦА 17.1

СТРУКТУРА ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА И МЕХАНИЗМЫ
ФОТОСИНТЕЗА У ПРОКАРИОТ И ХЛОРОПЛАСТОВ

	Прокариоты			Хлоропласты	
	пурпурные бактерии	зеленые бактерии	циано-бактерии	красные водоросли	зеленые водоросли и растения
Субклеточная структура, включающая фотосинтезирующий аппарат	Клеточная мембрана	Хлороби-ум-везикулы ¹	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды
Фотосистемы					
I	+	+	+	+	+
II	—	—	+	+	+
Восстановители, используемые при ассимиляции CO ₂	H ₂ S, H ₂ или органические соединения	H ₂ S, H ₂	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
Основной источник углерода при фотосинтезе	CO ₂ или органические соединения	CO ₂ или органические соединения	CO ₂	CO ₂	CO ₂

¹ По последним данным — и клеточная мембрана. — *Прим. ред.*

ум-везикулах¹ (подробнее см. гл. 11). Поскольку у этих организмов отсутствует фотосистема II, они не могут использовать воду в качестве восстановителя при ассимиляции CO₂. Эту функцию выполняют другие восстановленные неорганические соединения. В качестве источника углерода при фото-

ТАБЛИЦА 17.2

ПИГМЕНТЫ И ЛИПИДЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА ПРОКАРИОТ И ХЛОРОПЛАСТОВ

	Прокариоты			Хлоропласты	
	пурпурные бактерии	зеленые бактерии	циано-бактерии	красные водоросли	зеленые водоросли и растения
1. Пигменты	Бактериохлорофилл <i>a</i> или бактериохлорофилл <i>b</i>	Минорный: бактериохлорофилл <i>a</i> Основной: бактериохлорофиллы <i>c, d</i> или <i>e</i>	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i>
Хлорофиллы					

	Прокариоты			Хлоропласты	
	пурпурные бактерии	зеленые бактерии	цианобактерии	красные водоросли	зеленые водоросли и растения
Преобладающие каротиноиды					
Алициклические (β-каротин и близкие оксикаротиноиды)	—	—	+	+	+
Арильные каротиноиды	+ или —	+	—	—	—
Алифатические, содержащие метоксильную группу	— или +	—	—	—	—
Фикобилипротеиды					
Аллофикоцианин	—	—	+	+	—
Фикоцианин	—	—	+	+	—
Фикоэритрин	—	—	+ или —	+ или —	—
2. Липиды					
Монсгалактозилдиглицерид	—	+	+	+	+
Дигалактозилдиглицерид	—	—	+	+	+
Полиненасыщенные жирные кислоты	—	—	+ или —	+	+

¹ В хлоробиум-везикулах находятся только пигменты, улавливающие свет (пигменты-антенны), а пигменты, входящие в реакционные центры, расположены, видимо, в клеточной мембране. — *Прим. ред.*

синтезе пурпурные и зеленые бактерии могут использовать также органические соединения либо как таковые, либо наряду с CO₂; в этих условиях они не нуждаются в неорганическом восстановителе. Наконец, как у пурпурных, так и у зеленых бактерий пигменты и липиды фотосинтезирующего аппарата в значительной степени группоспецифичны.

ХЛОРОФИЛЛЫ ПРОКАРИОТ

Хлорофиллы пурпурных и зеленых бактерий имеют в принципе ту же структуру, что и хлорофилл растений, и образуются через те же пути биосинтеза. Но поскольку они встречаются лишь у этих двух групп бактерий, их называют *бактериохлорофиллами*. Рис. 17.1 и табл. 17.3 иллюстрируют различия в химической структуре пяти известных бактериохлорофиллов и хлорофилла *a*. По своему химическому строению бактериохлорофиллы делятся на два подкласса. В один из них входят бактериохлорофиллы *a* и *b*, в другой — бактериохлорофиллы *c*, *d* и *e*. Такое деление бактериохлорофиллов коррелирует с их распространенностью в биологических объектах. Клетки пурпурных бактерий содержат в зависи-

ТАБЛИЦА 17.3

РАЗЛИЧИЯ В ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ХЛОРОФИЛЛА *a* И БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛОВ

Пигмент	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Хлорофилл <i>a</i>	$-\text{C}=\text{CH}_2$	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}-\text{OCH}_3$ \parallel O	Фитил	$-\text{H}$
Бактериохлоро- филл <i>a</i>	$-\text{C}-\text{CH}_3$ \parallel O	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$ \parallel O	Фитил или гера- нил-геранил	$-\text{H}$
Бактериохлоро- филл <i>b</i>	$-\text{C}-\text{CH}_3$ \parallel O	$-\text{CH}_3$	$=\text{CH}-\text{CH}_2$	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$ \parallel O	Фитил	$-\text{H}$
Бактериохлоро- филл <i>c</i>	H $ \text{---}$ $-\text{C}-\text{CH}_3$ $ \text{---}$ OH	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	Фарнезил ³	$-\text{CH}_3$
Бактериохлоро- филл <i>d</i>	H $ \text{---}$ $-\text{C}-\text{CH}_3$ $ \text{---}$ OH	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	»	$[\text{---H}]$
Бактериохлоро- филл <i>e</i>	H $ \text{---}$ $-\text{C}-\text{CH}_3$ $ \text{---}$ OH	$-\text{C}=\text{O}$ $ \text{---}$ H	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	»	$-\text{CH}_3$

¹ Двойная связь между С-3 и С-4 насыщена; к ним присоединены дополнительные атомы водорода.² Двойная связь между С-3 и С-4 насыщена; к С-3 присоединен дополнительный атом водорода.³ По последним данным, не только фарнезил, но еще и фитил, стеарил или цетил. — *Прим. ред.*

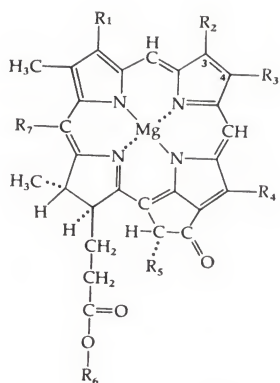


Рис. 17.1. Химическая структура хлорофиллов. Природа групп (R_1 — R_7), различающихся у хлорофилла *a* и разных бактериохлорофиллов, указана в табл. 17.3.

мости от вида только одну форму бактериохлорофилла — либо бактериохлорофилл *a*, либо *b*. Этот пигмент ответствен за поглощение света, а также связан с фотохимическими реакционными центрами. Клетки зеленых бактерий всегда содержат два типа бактериохлорофилла — основной и минорный. В зависимости от вида бактерий основным может быть бактериохлорофилл *c*, *d* или *e*. Роль основного бактериохло-

ТАБЛИЦА 17.4

СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ОЧИЩЕННЫХ ХЛОРОФИЛЛОВ В ЭФИРЕ

Максимум поглощения, нм (в скобках приведена относительная высота пика поглощения)				
Хлорофилл <i>a</i>	430 (100)		615 (13)	662 (77)
Бактериохлорофилл <i>c</i>	428 (100)		622 (29)	660 (63)
Бактериохлорофилл <i>d</i>	424 (100)		608 (17)	654 (61)
Бактериохлорофилл <i>e</i>	458 (100)		593 (12)	647 (32)
Бактериохлорофилл <i>a</i>	358 (100)	391 (68)	577 (29)	773 (126)
Бактериохлорофилл <i>b</i>	368 (100)	407 (87)	582 (30)	795 (96)

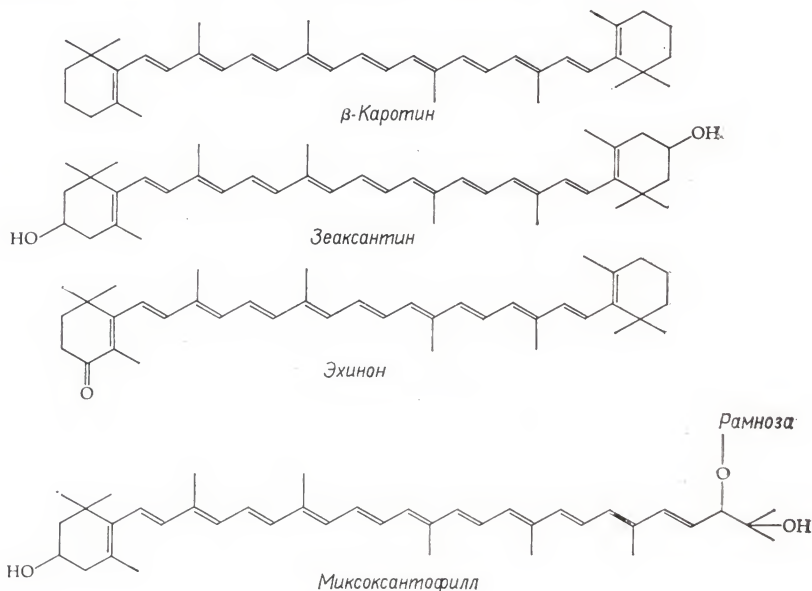
рофилла заключается в поглощении света. Минорным пигментом у всех зеленых бактерий является бактериохлорофилл *a*; он и входит в состав фотохимических реакционных центров.

Все три бактериохлорофилла (*c*, *d* и *e*), поглощающие свет в клетках зеленых бактерий, по своим спектральным характеристикам в растворах очень близки к хлорофиллу *a* (табл. 17.4). Две формы бактериохлорофилла (*a* и *b*), которые являются единственными хлорофиллами пурпурных бак-

Рис. 17.2. Некоторые каротиноиды цианобактерий. Основным пигментом у всех представителей этой группы является бициклический углеводород β -каротин, а у

многих организмов встречаются его оксипроизводные — зеаксантин и эхинон. Два первых каротиноида являются обычными пигментами хлоропластов эукариот. В ка-

честве примера группоспецифичных каротиноидов, синтезируемых некоторыми цианобактериями, приведен гликозидный каротиноид миксоксантофилл.



терий, отличаются, казалось бы, небольшим изменением в структуре — насыщением одной двойной связи в кольце между 3-м и 4-м углеродными атомами. Однако это сильно влияет на их спектральные свойства, приводя к смещению всех основных максимумов поглощения. Длинноволновый максимум поглощения бактериохлорофиллов *a* и *b* смещен в красную область более чем на 100 нм по сравнению с максимумом поглощения других бактериохлорофиллов и хлорофиллов растений и оказывается почти в инфракрасной области.

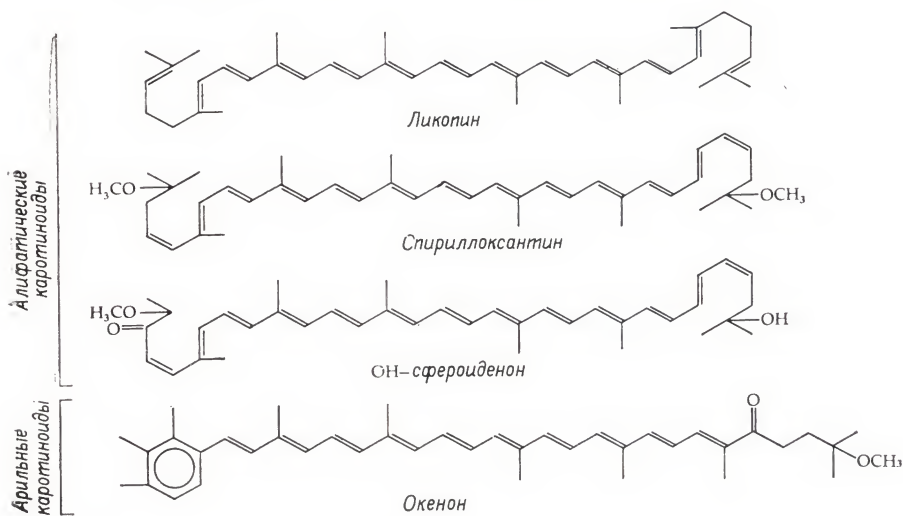
КАРОТИНОИДЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПРОКАРИОТ

Каротиноиды всегда связаны с фотосинтезирующим аппаратом и выполняют при фотосинтезе две функции. Они часто играют роль улавливающих свет пигментов, поглощая свет в сине-зеленой области спектра, между 400 и 500 нм. У одних фотосинтезирующих организмов им принадлежит основная роль в выполнении этой функции, у других — второстепенная. Кроме того, каротиноиды необходимы как «гасители» катализируемого хлорофиллом фотоокисления и защищают фото-

Рис. 17.3. Некоторые характерные для пурпурных бактерий каротиноиды. Большинство этих соединений являются алифатическими каротиноидами (с открытой

цепью), часто содержащими третичные карбоксильную или метоксильную ($-\text{OCH}_3$) группы. Арильные каротиноиды, содержащие на одном из концов ароматическое

кольцо (в качестве примера приведен окенон), встречаются лишь у некоторых пурпурных бактерий.



синтезирующий аппарат от повреждения в результате фотоокисления (гл. 10).

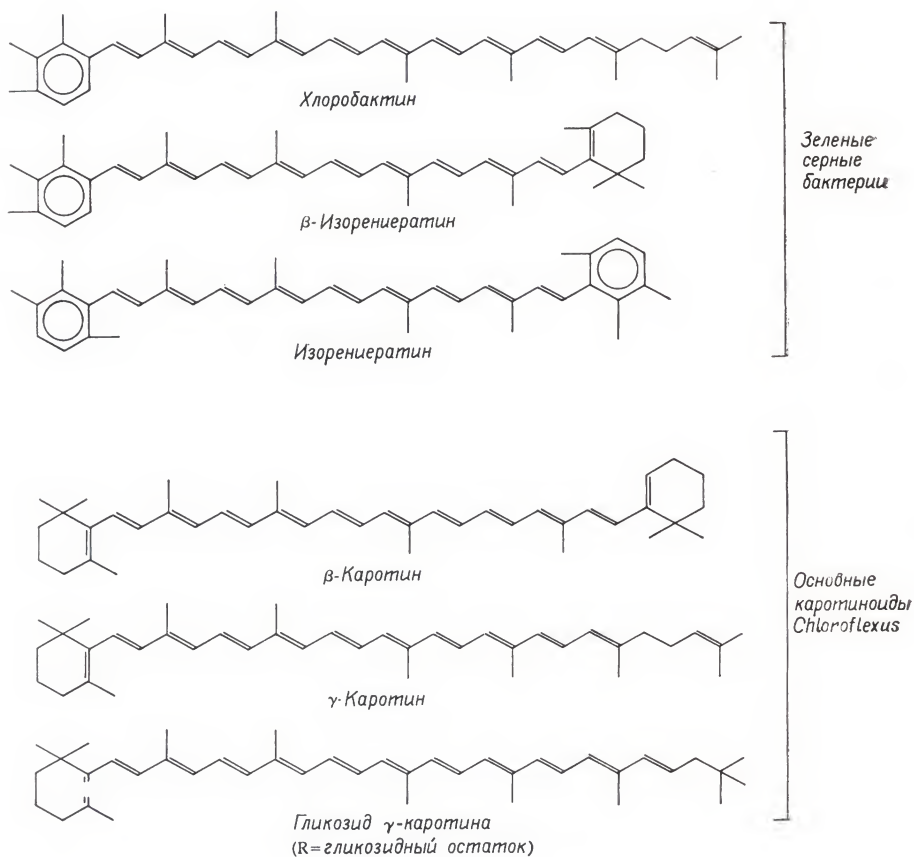
Каротиноидный состав у фототрофов имеет одновременно тенденцию к усложнению и к большей групповой специфичности. Однако у всех эукариотических фототрофов основными каротиноидами являются бициклические каротины и сходные содержащие кислород каротиноиды. Такие пигменты характерны и для цианобактерий. Многие из этих организмов содержат также группоспецифические каротиноидные гликозиды (рис. 17.2).

Каротиноидный состав у пурпурных бактерий крайне разнообразен. У разных представителей этой группы встречается более 30 таких пигментов, причем ни один из них не присутствует одновременно у всех организмов. Однако каротиноиды пурпурных бактерий являются группоспецифическими соединениями — у других фотосинтезирующих организмов они не встречаются. Большинство из них представляют собой алифатические соединения (т. е. соединения с открытой цепью), часто содержащие метоксигруппы. Некоторые являются арильными каротиноидами с ароматическим кольцом на одном из концов цепи (рис. 17.3). Арильные каротиноиды

Рис. 17.4. Каротиноиды зеленых бактерий. Зеленые серные бактерии всегда содержат моновалические или бициклические каротиноиды,

несущие на конце по крайней мере одну арильную (ароматическую) группировку. Такого типа каротиноиды отсутствуют у зеленой несерной

бактерии *Chloroflexus*, у которой основными каротиноидами являются β -каротин, γ -каротин и гликозид γ -каротина.



характерны почти для всех зеленых бактерий. Однако *Chloroflexus* содержит β - и γ -каротин, а также гликозиды γ -каротина (рис. 17.4).

ФИКОБИЛИПРОТЕИДЫ

Фикобилипротеиды, являющиеся основными поглощающими свет пигментами у цианобактерий и красных водорослей, представляют собой водорастворимые белки, содержащие в качестве хромофоров ковалентно присоединенные к ним линей-

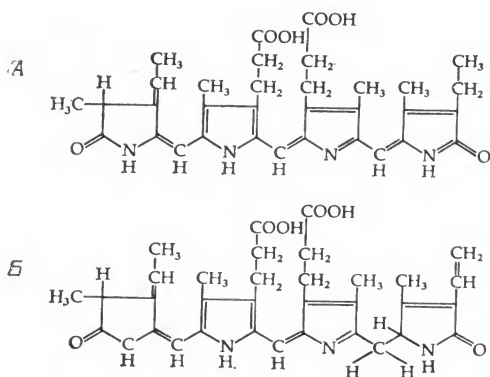


Рис. 17.5. Химическая структура хромофоров фикобилипротеидов. А. Фикоцианобилин, хромофор фикоцианина и аллофикоцианина. Б. Фикоэритробилин, хромофор фикоэритрина. Оба эти хромофора ковалентно связаны с теми белками, с которыми они ассоциированы.

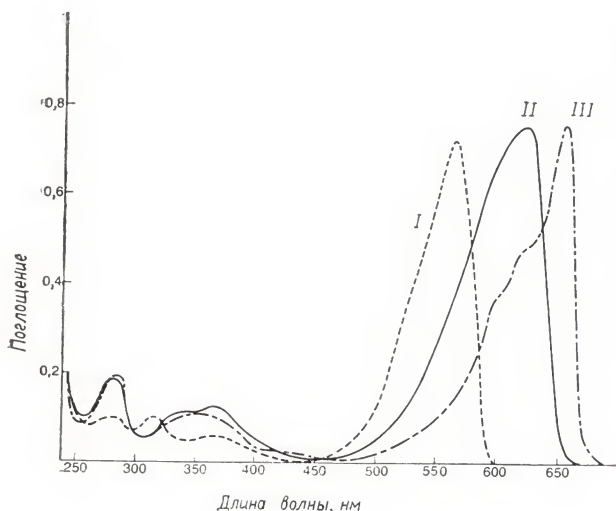


Рис. 17.6. Спектры поглощения фикобилипротеидов, выделенных из нитчатых цианобактерий. Максимум поглощения приведены к одной высоте. I — фикоэритрин; II — аллофикоцианин; III — фикоцианин. [A. Bennet, L. Bogorad, Properties of subunits and aggregates of blue-green algal biliproteins, Biochemistry, 10, 3625 1971).]

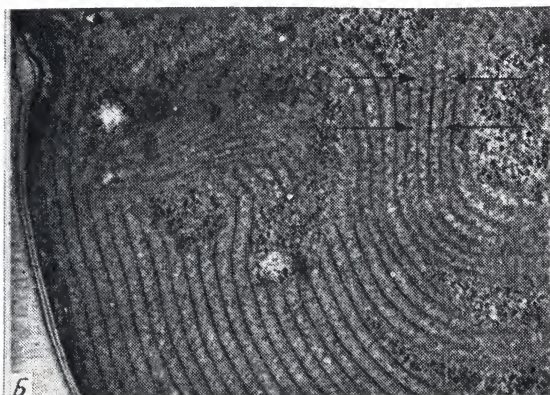
ные тетрапирролы (билины) (рис. 17.5). Они поглощают свет в широком диапазоне длин волн, приходящемся примерно на середину видимой области, и разделяются по спектрам поглощения на три класса (рис. 17.6). Два голубых пигмента, аллофикоцианин и фикоцианин, максимумы поглощения которых находятся в области относительно больших длин волн, встречаются у всех цианобактерий и у красных водорослей. У некоторых представителей этих групп имеется и красный пигмент, фикоэритрин, поглощающий в более коротковолновой области спектра. Фикобилипротеиды находятся в особых гранулах, называемых *фикобилисомами* (рис. 17.7), которые регулярным образом расположены на внешней поверхности тилакоидов (рис. 17.8). Энергия поглощаемого этими пиг-



Рис. 17.7. Фикобилисомы, выделенные из красной водоросли *Porphyridium*. Электронная микрофотография негативно контрастированного препарата. (С любезного разрешения Е. Ганта.)



Рис. 17.8. Электронные микрофотографии тонких срезов, показывающие, что фикобилисомы (указаны стрелками) расположены на поверхности тилакоидов. А. Срез хлоропласта красной водоросли. *Porphyridium*. (С любезного разрешения Е. Ганта). Б. Срез клетки цианобактерии *Aphanocapsa*. (С любезного разрешения Ж. Коэн-Базир).



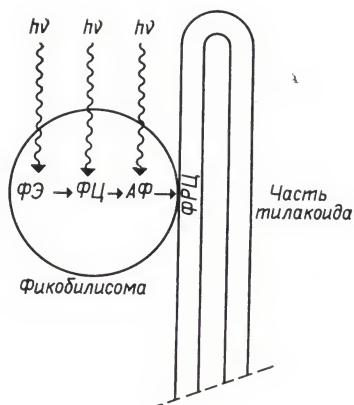


Рис. 17.9. Схематическое изображение части тилакоида с прикрепленной фикобилисомой. Показана цепь переноса энергии от поглощающих свет фикобилипротеидов к фотохимическому реакционному центру (ФРЦ) в тилакоиде. ФЭ — фикоэритрин, ФЦ — фикоцианин, АФ — алло-фикоцианин.

ментами света с очень высокой эффективностью переносится в содержащие хлорофилл реакционные центры, расположенные в тилакоидах. Эти три класса фикобилипротеидов, различающиеся по спектрам поглощения, составляют цепь переноса энергии в фикобилисомах, как это схематически изображено на рис. 17.9.

ЛИПИДЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА

В тилакоидах хлоропластов фотосинтезирующих эукариот специфически локализованы два класса гликолипидов — моногалактозил- и дигалактозилглицериды (рис. 17.10), которые составляют около 80% всех липидов, входящих в эти структуры. Они сильно этерифицированы α -линоленовой кислотой, полиненасыщенной жирной кислотой, встречающейся только в хлоропластах.

Оба эти галактолипида присутствуют также в тилакоидах цианобактерий, хотя здесь они не всегда этерифицированы α -линоленовой кислотой. Состав жирных кислот в клетках цианобактерий очень сильно варьирует. Для некоторых из этих организмов характерно высокое содержание α -линоленовой кислоты, тогда как у других бактерий присутствуют и иные полиненасыщенные жирные кислоты. Наконец, некоторые цианобактерии содержат жирные кислоты, характерные для бактерий, т. е. исключительно насыщенные и моносодержащие соединения.

Зеленые бактерии содержат лишь один из этих галактолипидов — моногалактозилдиглицерид, а пурпурные бактерии не содержат ни одного из них. Полиненасыщенные жирные кислоты среди липидов у обоих этих групп бактерий не встречаются.

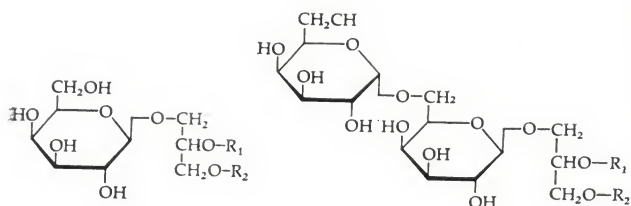


Рис. 17.10. Структура моногалактозилдиглицерида (*слева*) и дигалактозилдиглицерида (*справа*). R_1 и R_2 — присоединенные через эфирные связи жирные кислоты.

ФЕРРЕДОКСИНЫ

У всех фотосинтезирующих организмов важную роль в процессе переноса электронов в фотосинтезирующей транспортной цепи играют негеминные железосодержащие белки, ферредоксины. Эти белки, обладающие низким окислительно-восстановительным потенциалом, являются переносчиками электронов также и у чисто анаэробных нефотосинтезирующих бактерий. Как показано в табл. 17.5, ферредоксин циа-

ТАБЛИЦА 17.5

ХИМИЧЕСКИЕ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ФЕРРЕДОКСИНОВ

	<i>Clostridium</i> (анаэроб- ный хемо- гетеротроф)	<i>Chlorobium</i> (зеленая бактерия)	<i>Chromatium</i> (пурпурная бактерия)	<i>Anabaena</i> (циано- бактерия)	Хлоропла- сты шпината
Молекулярный вес	6000	6000	10 000	12 000	12 000
Число атомов Fe на молекулу белка	8	8	8	2	2
Число атомов кисло- толабильной серы на молекулу белка	8	8	8	2	2
Положение максиму- мов в спектрах по- глощения восста- новленной формы, нм	280, 300, 390			276, 330, 420, 463	

нобактерий очень близок по своим химическим свойствам к ферредоксину хлоропластов, ферредоксины же пурпурных и зеленых бактерий отличаются от них и больше похожи на ферредоксины нефотосинтезирующих бактерий.

СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ КЛЕТОК ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПРОКАРИОТ

Не все пигменты фотосинтезирующего аппарата улавливают свет с одинаковой эффективностью (например, эффективность хлорофилла *a* в этом отношении гораздо ниже, чем

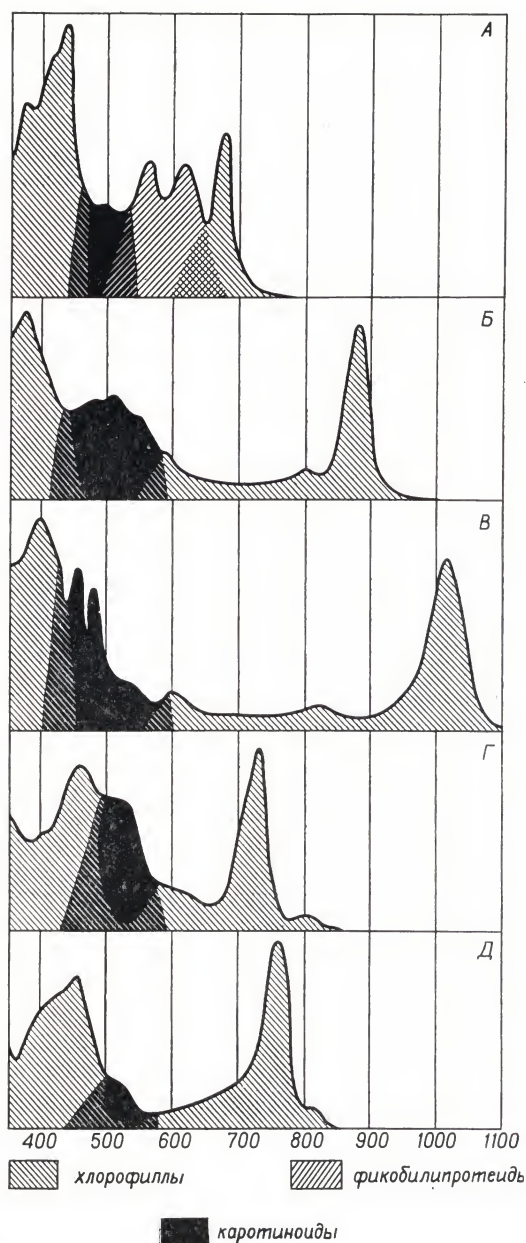


Рис. 17.11. Спектры поглощения клеток пяти типичных представителей фотосинтезирующих прокариот, выявляющие характерные различия в положении основных полос поглощения. Показан примерный вклад в поглощение основных присутствующих в этих организмах классов пигментов, участвующих в фотосинтезе. А. Цианобактерии: хлорофилл *a* и фикобилипротеиды. Б. Пурпурные бактерии: бактериохлорофилл *a*. В. Пурпурные бактерии: бактериохлорофилл *b*. Г. Зеленые бактерии: бактериохлорофиллы *e* и *a*. Д. Зеленые бактерии: бактериохлорофиллы *c* и *a*. Наличие двойного пика поглощения фикобилипротеидов в спектре цианобактерий отражает присутствие фикоэритрина (максимум при 575 нм) и фикоцианина (максимум при 625 нм). Поглощение, обусловленное аллофикоцианином (максимум при 650 нм), маскируется пиком поглощения фикоцианина.

фикобилипротеидов цианобактерий). Тем не менее спектры поглощения клеток фотосинтезирующих организмов дают примерное указание о тех длинах волн, которые эти организмы используют для фотосинтеза. На рис. 17.11 приведены

спектры поглощения клеток нескольких фотосинтезирующих прокариотических организмов. На этом рисунке в каждом случае указано, какой вклад в спектр поглощения клетки вносят хлорофиллы, каротиноиды и фикобилипротейды. Четко видно, что для каждой группы фотосинтезирующих прокариот характерен свой спектр поглощения клеток, причем эти спектры в значительной степени комплементарны. Цианобактерии в основном поглощают свет между 550 и 700 нм (за счет фикобилипротейдов и хлорофилла *a*). У зеленых бактерий основная полоса поглощения сильно сдвинута в красную область и находится между 700 и 800 нм. Это поглощение обусловлено характерными для данной группы улавливающими свет бактериохлорофиллами (*c*, *d* или *e*). Основные полосы поглощения пурпурных бактерий лежат главным образом в инфракрасной области и имеют один или несколько максимумов, соответствующих либо бактериохлорофиллу *a*, либо бактериохлорофиллу *b*. Полоса поглощения тех пурпурных бактерий, которые содержат бактериохлорофилл *b*, лежит вблизи 1000 нм, т. е. находится совсем рядом с той границей спектра, за которой свет уже не может инициировать фотохимических реакций, поскольку кванты света с такими длинами волн обладают слишком низкой энергией¹.

Спектры поглощения фотосинтезирующих эукариот в общем сходны со спектрами поглощения цианобактерий, хотя лишь в спектрах красных водорослей имеются максимумы поглощения в области 550—630 нм, где поглощают фикобилипротейды. Различия в спектрах поглощения разных групп фотосинтезирующих организмов имеют большое экологическое значение; этот вопрос будет далее обсуждаться в данной главе.

Как уже отмечалось, бактериохлорофиллы пурпурных бактерий обладают уникальными спектральными свойствами — их основная полоса поглощения лежит в гораздо более длинноволновой области, чем у других хлорофиллов. Однако улавливающие свет бактериохлорофиллы зеленых бактерий по своим спектральным характеристикам очень близки к хлорофиллу *a*, и в длинноволновой области их полосы поглощения лишь немного сдвинуты в сторону более коротких волн относительно полос поглощения хлорофилла *a* (табл. 17.6). Следовательно, казалось бы, максимумы поглощения бактериохлорофилла в спектрах поглощения клеток зеленых бактерий должны находиться рядом с максимумами поглощения хлорофилла *a* в спектрах цианобактерий. В действительности же они оказываются в существенно более длинноволновой области (рис. 17.11). Этот сдвиг обусловлен изменением спектральных свойств хлорофиллов *in vivo*, которое вызвано тем, что они связаны с белками фотосинтезирующего ап-

парата¹. Сдвиг максимумов поглощения *in vivo* в сторону более длинных волн относительно максимумов поглощения выделенного пигмента характерен для всех фототрофов, однако величина этого сдвига непостоянна и у пурпурных и зеленых бактерий гораздо больше, чем у цианобактерий и у эукариот (табл. 17.6). Таким образом, способность пурпур-

ТАБЛИЦА 17.6

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХЛОРОФИЛЛОВ ПРОКАРИОТ
В ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ (ЭФИРЕ ИЛИ АЦЕТОНЕ)
И ИНТАКТНЫХ КЛЕТКАХ

Биологическая группа	Максимум, поглощения, нм		Величина сдвига <i>in vivo</i> , нм
	в органическом растворителе	в клетке	
Цианобактерии			
хлорофилл <i>a</i>	662	680—685	18—23
Пурпурные бактерии			
бактериохлорофилл <i>a</i>	773	850—910	78—137
бактериохлорофилл <i>b</i>	795	1020—1035	225—240
Зеленые бактерии			
бактериохлорофилл <i>c</i>	660	750—755	90—95
бактериохлорофилл <i>d</i>	654	725—735	71—79
бактериохлорофилл <i>e</i>	647	715—725	68—78
бактериохлорофилл <i>a</i> ₁	773	805—810	32—37

¹ Этот единственный общий для всех зеленых бактерий бактериохлорофилл всегда является минорным пигментом и представлен в спектре поглощения целой клетки максимумом, величина которого гораздо меньше, чем максимума поглощения основного группоспецифического бактериохлорофилла (*c*, *d* или *e*).

ных и зеленых бактерий к фотосинтезу при освещении их светом с очень большими длинами волн лишь частично объясняется спектральными свойствами самих бактериохлорофиллов и в значительной степени определяется природой присутствующих в их фотосинтезирующем аппарате комплексов хлорофилла с белком.

ЦВЕТ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПРОКАРИОТ

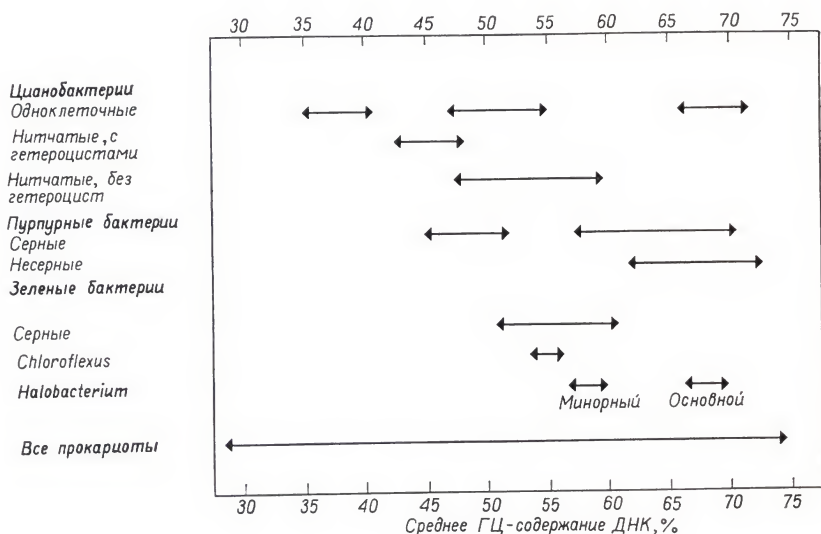
Названия трех групп фотосинтезирующих прокариот не всегда соответствуют визуально наблюдаемому цвету их клеток. Так как основные полосы поглощения света хлорофиллом пурпурных бактерий лежат в невоспринимаемой глазом инфракрасной области, то видимая окраска этих организмов определяется главным образом содержащимися в них каротиноидами. Точно так же и окраска зеленых бактерий может быть желто-зеленой, оранжевой или коричневой в зависимости от каротиноидного состава.

¹ Сдвиг максимумов поглощения хлорофиллов *in vivo* может быть связан также с их агрегацией. — *Прим. ред.*

Рис. 17.12. Диапазон изменений нуклеотидного состава ДНК фотосинтезирующих прокариот и *Halobacterium*. Особенно широк этот диапазон у одноклеточных цианобактерий, которые вклю-

чают несколько подгрупп, сильно различающихся по нуклеотидному составу. Среди пурпурных серных бактерий также имеются две подгруппы, различающиеся по этому показателю.

ДНК из *Halobacterium* гетерогенна; в клетках содержатся основной и минорный компоненты ДНК с существенно разным нуклеотидным составом.



У цианобактерий основной вклад в поглощение в видимой области спектра вносят фикобилипротенды, которые и определяют в значительной мере их цвет. Если клетки не содержат фикоэритрина, то они оказываются сине-зелеными, а если в них присутствует фикоэритрин, они могут быть красными, фиолетовыми, коричневыми или почти черными.

ЦИАНОБАКТЕРИИ

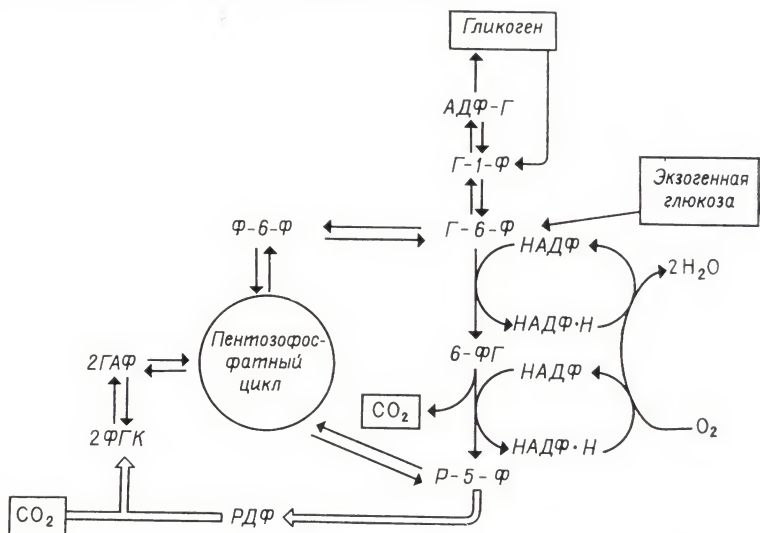
Как в морфологическом, так и в генетическом отношении цианобактерии весьма разнообразны (см. гл. 5 и рис. 17.12). Диапазон, в котором изменяется нуклеотидный состав ДНК этих организмов, почти столь же широк, как и для всех прокариот вместе взятых, а одноклеточных представителей этой группы можно разделить на ряд подгрупп, различающихся по нуклеотидному составу.

Однако по своим пищевым потребностям и по характеру метаболизма эта группа организмов довольно однородна. Все они являются фотоавтотрофами и редко нуждаются в факторах роста, хотя для некоторых морских цианобактерий необходим витамин B_{12} , CO_2 ассимилируется через цикл Каль-

Рис. 17.13. Упрощенная схема связей между основными путями метаболизма углерода у цианобактерий. Субстраты и конечные продукты заключены в прямоугольники. Двойными стрелками показаны реакции,

специфичные для цикла Кальвина, а простыми — реакции, специфичные для метаболизма темного дыхания. РДФ — рибулозо - 1,5 - дифосфат; ФГК — фосfogлицериновая кислота; ГАФ — глицеральдегид-

фосфат; Ф-6-Ф — фруктозо-6-фосфат; 6-ФГ — 6-фосfogлюконат; Р-5-Ф — рибулозо - 5 - фосфат; Г-1-Ф — глюкозо-1-фосфат; АДФ-Г — АДФ-глюкоза.



вина с образованием и накоплением гликогена, который служит внутриклеточным резервным материалом.

Многие цианобактерии являются *облигатными фотоавтотрофами* и совершенно не способны расти в темноте за счет органических источников углерода и энергии. Те же представители этой группы, которые могут расти в отсутствие света, растут в темноте гораздо медленнее, чем на свету, причем этот рост идет за счет использования глюкозы или некоторых других сахаров, диссимиляция которых осуществляется путем аэробного дыхания. Ограниченная способность использовать органические соединения как источник углерода и энергии отражает тот факт, что у всех этих организмов отсутствует полный цикл трикарбоновых кислот. У цианобактерий нет ключевого фермента цикла α -кетоглутаратдегидрогеназы, и эта особенность метаболизма роднит их со многими облигатными анаэробными хемоавтотрофами и метилотрофами (гл. 18). Дыхание происходит исключительно через окислительный пентозофосфатный цикл, реакции которого весьма близки к реакциям цикла Кальвина (рис. 17.13). Характерная для многих цианобактерий облигатная фотоавтотрофность обусловлена, по-видимому, тем, что у них отсутствуют специфические пермеазы, необходимые для погло-

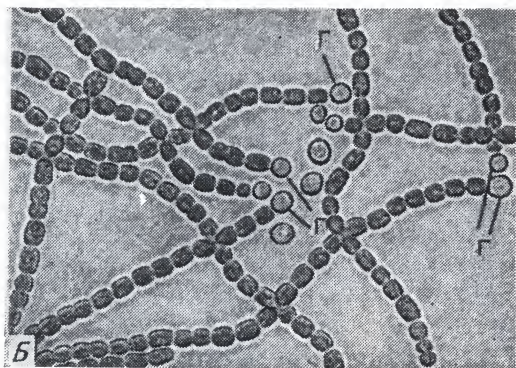
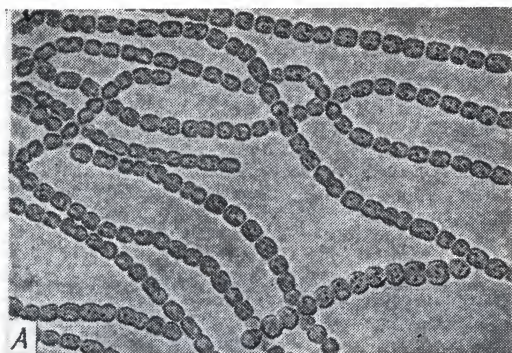


Рис. 17.14. Влияние источника азота на образование гетероцист у цианобактерии *Anabaena* sp. А. Нити из культуры, для которой источником азота служит NH_3 . Б. Нити из культуры, для которой источником азота служил N_2 . г — гетероциста ($\times 616$). (С любезного разрешения Р. Рипки.)

щения клетками экзогенных сахаров, так как ферменты окислительного пентозофосфатного цикла у всех цианобактерий имеются. Этот метаболический путь позволяет генерировать АТФ в темноте в результате использования накопленного клеткой гликогена для эндогенного дыхания.

ФИКСАЦИЯ АЗОТА

Цианобактерии — это единственные организмы, которые одновременно могут осуществлять окислительный фотосинтез и фиксировать молекулярный азот, причем многие из них делают это весьма эффективно. Такие организмы обладают самыми простыми пищевыми потребностями, которые только известны: они могут расти на свету в минеральной среде, используя в качестве источника углерода CO_2 , а в качестве источника азота N_2 .

Одновременное протекание в одном организме процессов фотосинтеза с выделением O_2 и фиксации азота представляет явный парадокс, так как ассимиляция молекулярного азота — процесс анаэробный. Ключевой фермент этого процесса, нитрогеназа, быстро и необратимо инактивируется *in vitro*

Рис. 17.15. Электронные микрофотографии тонких срезов вегетативной клетки (А) и гетероцисты (Б) *Anabaena cylindrica*, на которых видны основные различия в их тонкой структуре. Обратите внимание на дополнительные слои кле-

точной стенки (кс), окружающие гетероцисту, и полярные мостики (пм), соединяющие гетероцисту с соседними вегетативными клетками ($\times 17\,000$). [А — из работы Koolasooriya S. A., Lang N. J., Fay P., The heterocysts of blue-green

algae III. Differentiation and nitrogenase activity, Proc. Roy. Soc. London B181, 199 (1972). Б — из работы Fay P., Lang N. J., The heterocysts of blue-green algae I. Ultrastructural integrity after isolation, Proc. Roy. Soc. London B178, 185 (1971).]



даже при низком парциальном давлении кислорода. За редким исключением, все фиксирующие азот цианобактерии являются нитчатыми организмами, образующими специализированные клетки, *гетероцисты*.

При росте в условиях фотосинтеза в присутствии источника связанного азота (нитрата или аммония) такие цианобактерии образуют лишь небольшое число гетероцист или не образуют их совсем. В этих условиях подавлен также синтез нитрогеназы. Однако если ощущается недостаток связанного азота, то синтез нитрогеназы индуцируется и образуются гетероцисты. Для этих процессов не требуется присутствия N_2 — они могут протекать в освещенной суспензии нитей клеток в атмосфере, которая вместо азота содержит аргон. Обычно после удаления из среды связанного азота примерно 5—10% клеток в нитях превращается в гетероцисты (рис. 17.14).

Дифференциация гетероцисты из вегетативной клетки сопровождается синтезом нового толстого слоя наружной стенки, интенсивной реорганизацией тилакоидов, которые кон-

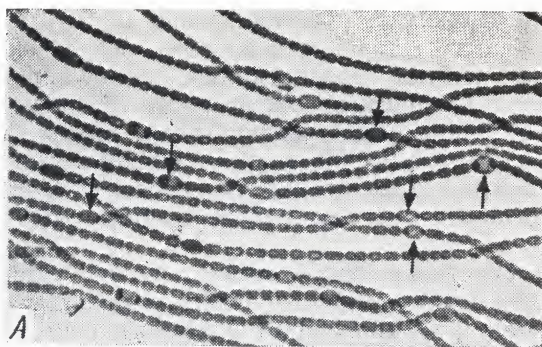


Рис. 17.16. Микрофотографии содержащих гетероцисты нитей *Anabaena cylindrica*, показывающие распределение хлорофилла и фикоцианина. А. Изображение получено в проходящем голубом свете, который поглощается преимущественно хлорофиллом. Поглощение вегетативных клеток и гетероцист (отмечены стрелками) примерно одинаково, т. е. они мало различаются по содержанию хлорофилла. Б. Флуоресцентное изображение, полученное в условиях, когда специфически выявляется флуоресценция фикоцианина. Четко видны флуоресцирующие вегетативные клетки, а гетероцисты (отмечены стрелками) едва различимы. Это показывает, что последние содержат мало фикоцианина (или не содержат его вообще). (С любезного разрешения М. Донза.)

центрируются вблизи двух полюсов клетки, и образованием особых полярных мостиков в местах соединения гетероцист с соседними вегетативными клетками (рис. 17.15). Зрелые гетероцисты лишены ядра и потому не могут ни делиться, ни превращаться обратно в вегетативные клетки. Содержание хлорофилла *a* в гетероцистах практически такое же, как в вегетативных клетках, но фикобилипротеиды отсутствуют (рис. 17.16). Активная фотосистема I сохраняется, но фотосистема II дефектна. Гетероцисты не могут ни фиксировать CO_2 , ни образовывать O_2 на свету.

Условия, которые благоприятствуют образованию гетероцист, а также спектральные характеристики этих клеток указывают на то, что специфическими клетками, в которых на свету в аэробных условиях происходит фиксация молекулярного азота, являются именно гетероцисты. Сохранение в них фотосистемы I позволяет генерировать АТФ в результате циклического фотофосфорилирования, а утрата фотосистемы II создает такие условия, когда O_2 не образуется и потому может функционировать нитрогеназа. Однако утрата этой системы препятствует также и ассимиляции CO_2 , так что гетероцисты оказываются зависимыми от соседних вегетативных клеток в отношении промежуточных метаболитов, кото-

рые обеспечивают возможность восстановления N_2 до аммония. Неспособные к росту гетероцисты в свою очередь снабжают вегетативные клетки соединениями, содержащими фиксированный азот, необходимый для их роста. У большинства цианобактерий гетероцисты расположены вдоль нити через определенные интервалы. По мере удлинения нити за счет роста и деления входящих в нее вегетативных клеток между уже существовавшими гетероцистами образуются новые.

Хотя имеются веские косвенные данные в пользу гипотезы о том, что фиксация азота при аэробных условиях у гетероцистных цианобактерий происходит исключительно в гетероцистах, окончательно эта гипотеза не доказана. Данные в пользу гипотезы были получены при исследовании синтеза нитрогеназы такими нитчатыми цианобактериями, которые вообще не образуют гетероцист (штаммы *Oscillatoria* и *Plectonema*). Эти организмы могут (если исходно условия были анаэробными) синтезировать нитрогеназу на свету в отсутствие связанного азота. В контрольной культуре, которую инкубируют на воздухе, нитрогеназа не обнаруживается. Синтезированная клетками *Oscillatoria* и *Plectonema* в анаэробных условиях нитрогеназа быстро выводится из строя *in vivo*, если выдерживать нити на воздухе. Такие цианобактерии явно являются потенциальными фиксаторами азота. Но в отличие от тех бактерий, которые образуют гетероцисты, они не могут расти в аэробных условиях, используя N_2 , так как неспособны поддерживать нитрогеназную активность в клетках.

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ПИГМЕНТОВ

У цианобактерий синтез пигментов и других компонентов фотосинтезирующего аппарата конститутивен. Даже после многократных пересевов в содержащих сахара средах в темноте штаммы факультативных гетеротрофов сохраняют нормальный набор пигментов и могут сразу же начать расти в минеральной среде на свету. Однако многие штаммы, образующие фикоэритрин, реагируют на цвет освещения; эта реакция носит название *комплементарной хроматической адаптации*. Если такие штаммы выращивают при зеленом свете, у них оказывается повышенное содержание фикоэритрина по отношению к фикоцианину, а если их выращивают при красном свете, они синтезируют очень небольшие количества фикоэритрина (рис. 17.17). Такие специфические изменения в содержании фикобилипротеидов, индуцированные освещением, позволяют клеткам наиболее эффективно поглощать свет той длины волны, которым их освещают. Механизм хроматической адаптации неизвестен, но имеются данные, что в этой регуляции участвует специальный регуляторный чувствитель-

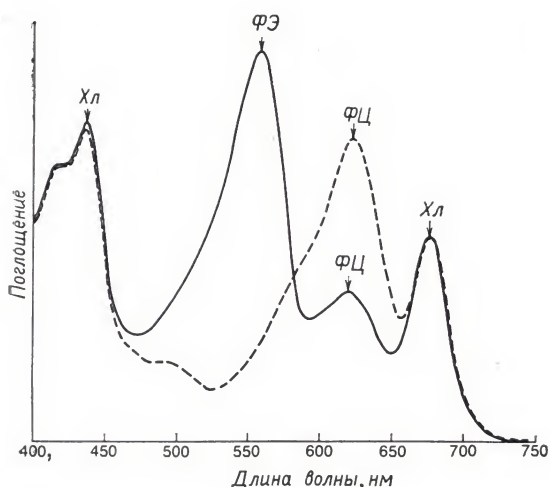


Рис. 17.17. Влияние хроматического света на синтез фикобилипротеинов цианобактерий *Pseudoanabaena* sp. Приведены спектры поглощения клеток, выращенных при зеленом (сплошная линия) или красном (пунктирная линия) свете. Отмечены положения максимумов поглощения хлорофилла *a* (Хл), фикоцианина (ФЦ) и фикоэритрина (ФЭ). Клетки, выращенные при красном свете, практически не содержат фикоэритрина. Клетки, выращенные при зеленом свете, содержат большое количество фикоэритрина и мало фикоцианина. (С любезного разрешения Н. Танде де Марсака.)

ный к свету пигмент, подобный (но не идентичный) фитохрому — билипротейду, являющемуся важным фоторегулятором роста и дифференцировки растений.

ЭКОЛОГИЯ

Экологическая ниша, которую занимают цианобактерии, намного обширнее ниш, занимаемых другими фотосинтезирующими прокариотами. Они встречаются всюду, где условия благоприятствуют росту водорослей, — в море, в пресных водоемах, в почве. Более того, цианобактерии развиваются и в таких местах, где почти нет фотосинтезирующих эукариотических организмов. Фиксирующие азот представители этой группы бактерий широко распространены там, где лимитирующим фактором является связанный азот, особенно в тропических почвах, часто бедных азотом. Некоторые термофильные цианобактерии в изобилии растут в нейтральных или щелочных горячих источниках и составляют там основную часть популяций фотосинтезирующих организмов. Температура, при которой могут развиваться термофильные цианобактерии, варьирует, некоторые одноклеточные формы способны расти при температурах выше 70°C. Поскольку цианобактерии развиваются лишь при относительно высоких рН, они не встречаются в кислых горячих источниках. Характерным фототрофным обитателем таких источников является красная водоросль *Cyanidium caldarium*; для этого организма оптимальными являются низкие значения рН, и он представляет собой единственный истинно термофильный фотосинте-

зирующий эукариотический организм. Однако температурный максимум для *Cyanidium caldarium* (около 56 °C) существенно ниже, чем для многих термофильных цианобактерий.

В пустынях фотосинтезирующие микроорганизмы представлены почти исключительно одноклеточными цианобактериями. Эти организмы растут в микротрещинах на поверхности скал, где задерживается немного влаги и куда проникает достаточное для фотосинтеза количество света. Они выживают в пустыне потому, что способны выдерживать сильные суточные колебания температуры.

Для озер, в которых наблюдается эвтрофикация (за счет искусственного обогащения минеральными питательными веществами, особенно фосфатом и нитратом), характерно массовое развитие в летние месяцы одноклеточных и нитчатых цианобактерий. В основном это формы, содержащие газовые вакуоли. В тихую погоду бактерии всплывают на поверхность, скапливаются там и вызывают «цветение воды». Последующие гибель и распад этих организмов приводят к массовому развитию хемогетеротрофных бактерий, что может иметь катастрофические последствия для населяющих озеро животных, поскольку приводит к истощению запасов растворенного кислорода.

ПУРПУРНЫЕ БАКТЕРИИ

С точки зрения таксономии пурпурные бактерии составляют небольшую группу, в которую входит примерно 30 видов. Все они являются одноклеточными и размножаются бинарным делением, а некоторые виды — почкованием. Большинство пурпурных бактерий перемещаются с помощью жгутиков, а отдельные виды неподвижны. Некоторые из этих бактерий образуют газовые вакуоли. Хотя число видов, входящих в данную группу, невелико, генетически она довольно разнообразна; среднее ГЦ-содержание ДНК у разных ее представителей варьирует от 46 до 73% (рис. 17.12).

Все пурпурные бактерии являются, по крайней мере потенциально, фотоавтотрофами, способными к росту в анаэробных условиях на свету при наличии в качестве основного источника углерода CO_2 , а в качестве доноров электронов — восстановленных неорганических соединений. Главным метаболическим путем ассимиляции углерода в этих условиях является цикл Кальвина. Однако пурпурные бактерии могут развиваться и в фотогетеротрофных анаэробных условиях на свету за счет использования органических соединений, главным образом ацетата. В этих условиях материал клетки образуется в основном из органического субстрата, хотя может происходить также ассимиляция CO_2 .

Такая сопутствующая ассимиляция CO_2 становится важной в том случае, когда органический субстрат восстановлен

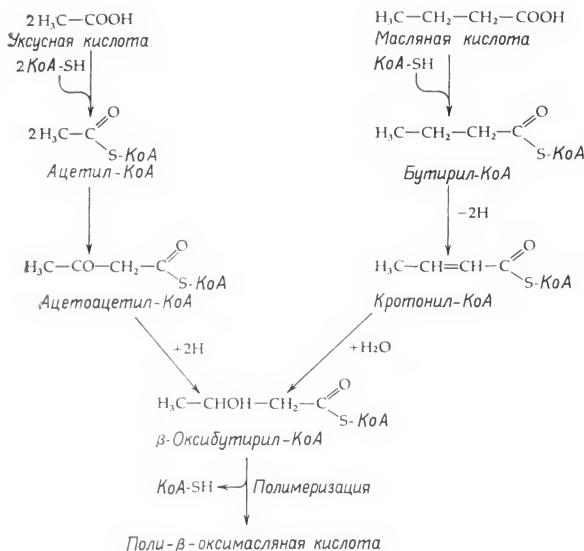


Рис. 17.18. Превращение уксусной и масляной кислот в поли-β-оксимасляную кислоту пурпурными несерными бактериями.

больше, чем материал клетки, так как восстановительная ассимиляция CO_2 позволяет использовать «избыточные» электроны, получаемые из органического субстрата, и тем самым поддерживать окислительно-восстановительное равновесие. Это можно продемонстрировать на примере фотометаболизма пурпурными бактериями двух жирных кислот, уксусной и масляной. В анаэробных условиях на свету многие пурпурные бактерии быстро ассимилируют эти соединения. Сначала через цепь реакций, которая показана на рис. 17.18, значительная часть этих соединений превращается в запасный материал, образуемый всеми пурпурными бактериями, — поли-β-оксимасляную кислоту. Ассимиляция уксусной кислоты при фотосинтезе происходит и в отсутствие CO_2 , но для ассимиляции масляной кислоты он необходим.

Превращение уксусной кислоты в поли-β-оксимасляную кислоту представляет собой восстановительный процесс:



Большинство пурпурных бактерий обладают системой ферментов цикла трикарбоновых кислот и потому могут генерировать восстановитель путем анаэробного окисления уксусной кислоты в этом цикле:



Это позволяет превращать уксусную кислоту в поли-β-оксимасляную кислоту с помощью восстановительной реакции; уравнение для суммарной реакции имеет вид:

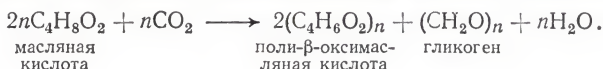


Как видно из этого уравнения, ассимиляция углерода происходит с высокой эффективностью и около 90% этого органического субстрата превращается в запасный материал клетки. Столь высокая эффективность возможна лишь потому, что фотохимические реакции (циклическое фотофосфорилирование) могут дать потенциально неограниченные количества АТФ, необходимого для начальной активации уксусной кислоты (т. е. для образования ацетил-КоА).

Синтез поли-β-оксимасляной кислоты из масляной кислоты является окислительным процессом



В анаэробных условиях эта реакция может протекать только в том случае, если имеется *акцептор водорода*. Роль такого акцептора выполняет CO_2 , который ассимилируется через цикл Кальвина и превращается в гликоген, другой образуемый всеми пурпурными бактериями запасный материал. Если обозначить гликоген как $(\text{CH}_2\text{O})_n$, то уравнение сопряженной реакции фотоассимиляции можно записать так:

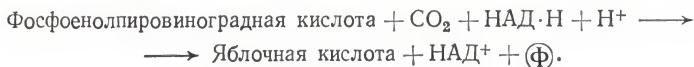


Таким образом, анаэробная фотоассимиляция масляной кислоты обязательно сопряжена с ассимиляцией CO_2 , причем оба эти процесса идут за счет АТФ, получаемого при циклическом фотофосфорилировании. Для этого процесса не нужен цикл трикарбоновых кислот, необходимый для анаэробной ассимиляции уксусной кислоты.

Сама по себе поли-β-оксимасляная кислота не является клеточным материалом. Чтобы она могла служить основным источником компонентов клетки, входящие в нее ацетильные остатки должны быть превращены в пировиноградную кислоту. Подобно многим анаэробным хемогетеротрофным бактериям, пурпурные бактерии могут синтезировать пировиноградную кислоту из ацетильных остатков в ходе реакции, в которой участвует ферредоксин (Фд):



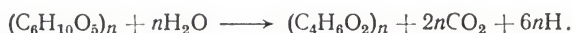
Из пировиноградной кислоты через фосфоенолпировиноградную кислоту могут быть синтезированы фосфаты сахаров и дикарбоновые кислоты. Синтез дикарбоновых кислот включает второе восстановительное карбоксилирование:



Во многих условиях роста этот альтернативный путь фиксации CO_2 становится у пурпурных бактерий в количественном отношении более существенным, чем ассимиляция CO_2 через цикл Кальвина. Однако путь фиксации через ацетил-

КоА и яблочную кислоту не представляет собой замкнутого цикла и поэтому его действие зависит от наличия ацетил-КоА, поступающего из эндогенных или экзогенных источников. Таким образом, пути ассимиляции углерода из органических источников и CO_2 у пурпурных бактерий варьируют и оказываются довольно сложными.

Пурпурные бактерии (за немногими исключениями) неспособны к ферментативному синтезу АТФ в темноте. Интересный механизм анаэробной генерации АТФ в темноте обнаружен у *Chromatium*. Этот механизм способен обеспечивать клетку энергией и заключается в превращении внутриклеточного запасного гликогена в другой внутриклеточный запасный материал, поли- β -оксимасляную кислоту. Гликоген расщепляется (возможно, через путь Эмбдена — Мейергофа) до пировиноградной кислоты, которая в свою очередь превращается в CO_2 и ацетил-КоА. Поскольку синтез поли- β -оксимасляной кислоты из ацетил-КоА не требует затраты лишнего АТФ, суммарная реакция даст выигрыш АТФ за счет субстратного фосфорилирования при превращении гликогена в пировиноградную кислоту. Суммарная реакция может быть записана следующим образом:



Эта реакция зависит от наличия подходящего акцептора водорода. Роль такого акцептора у *Chromatium* выполняют внутриклеточные отложения элементарной серы, которая восстанавливается до H_2S :



Таким образом, синтез поли- β -оксимасляной кислоты из гликогена связан не с брожением, а с *эндогенным анаэробным дыханием*, при котором в качестве акцептора электронов используется S.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППЫ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

Обычно пурпурные бактерии подразделяют на две подгруппы, различающиеся как в физиологическом, так в экологическом отношении (табл. 17.7), — *пурпурные серные бактерии* и *пурпурные несерные бактерии*. Для пурпурных серных бактерий характерен преимущественно фотоавтотрофный метаболизм, основанный на использовании в качестве донора электронов H_2S , и они являются как правило строгими анаэробами. Для пурпурных несерных бактерий характерен преимущественно фотогетеротрофный метаболизм. Они чувствительны к H_2S , их рост подавляется низкими концентра-

ТАБЛИЦА 17.7

ПРИЗНАКИ, ПО КОТОРЫМ РАЗЛИЧАЮТСЯ ДВЕ ПОДГРУППЫ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

	Пурпурные серные бактерии	Пурпурные несерные бактерии
Основной тип фотосинтеза	Фотоавтотрофный	Фотогетеротроф- ный
Круг фотоассимилируемых органических веществ	Узкий	Широкий
Рост в темноте в аэробных условиях	— ¹	+ или —
Способность окислять H ₂ S	+	+ или —
Накопление элементарной серы, являющейся промежуточным продуктом при окислении H ₂ S до SO ₄ ²⁻	+	—
Токсичность H ₂ S	Обычно низкая	Обычно высокая
Способность использовать SO ₄ ²⁻ в качестве источника серы	+ или —	+
Потребность в факторах роста	+ или —	+ или —
Природа факторов роста (если они необходимы)	Витамин B ₁₂	Тиамин и/или биотин и/или ниацин ²

¹ Отдельные виды могут расти в темноте. — Прим. ред.² Один вид, *Rhodocyclus purpurus*, нуждается в витамине B₁₂. — Прим. ред.

циями сульфида, хотя некоторые виды могут в анаэробных условиях на свету окислять сульфид, если его концентрация в среде поддерживается на очень низком уровне.

В то время как пурпурные серные бактерии являются, как правило, облигатными фототрофами, многие пурпурные несерные бактерии могут столь же хорошо расти в аэробных условиях в темноте. Такие штаммы обладают аэробной цепью переноса электронов и, таким образом, способны к дыханию. Некоторые из них могут также расти (хотя и очень медленно) в темноте в анаэробных условиях, сбраживая пировиноградную кислоту или сахара.

Пурпурные несерные бактерии, как правило, встречаются в пресных озерах и водоемах, где имеются органические вещества, но либо вообще нет сульфида, либо он содержится в низких концентрациях. Типичным местообитанием пурпурных серных бактерий являются богатые сульфидом водоемы, в которых он образуется в результате жизнедеятельности сульфатредуцирующих бактерий. Граница между двумя подгруппами пурпурных бактерий довольно нечеткая, поскольку все пурпурные несерные бактерии могут расти в фотоавтотрофных условиях в присутствии H₂, а иногда используя и восстановленные неорганические соединения серы.

ПУРПУРНЫЕ СЕРНЫЕ БАКТЕРИИ

В табл. 17.8 перечислены признаки, характерные для разных родов пурпурных серных бактерий, а на рис. 17.19 показаны микрофотографии некоторых типичных их представителей. Характерный для этих организмов фотометаболизм включает ассимиляцию CO_2 в основном через цикл Кальвина, а образование АТФ обеспечивается циклическим фотофосфорилированием. Восстановитель образуется за счет H_2S , окисляемого в анаэробных условиях через элементарную серу до сульфата. Суммарную реакцию схематически можно представить в следующем виде:



Некоторые пурпурные серные бактерии могут использовать вместо H_2S в качестве экзогенного донора электронов и другие неорганические соединения серы (S , тиосульфат, сульфит). Биохимия окисления этих восстановленных соеди-

ТАБЛИЦА 17.8
РОДЫ ПУРПУРНЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ¹

Род	Форма клеток или их групп	Подвижность	Газовые вакуоли	Место отложения серы
<i>Thiospirillum</i>	Отдельные клетки спиральной формы	+	—	Внутри клеток
<i>Ectothiorhodospira</i>	Отдельные вибрионные клетки	+	—	Вне клеток
<i>Chromatium</i>	Отдельные клетки цилиндрической формы	+	—	Внутри клеток
<i>Thiocystis</i>	Отдельные клетки сферической формы	+	—	То же
<i>Thiosarcina</i>	Кубические пакеты, клетки сферической формы	+	—	» »
<i>Thiocapsa</i>	Отдельные клетки сферической формы	—	—	» »
<i>Lamprocystis</i>	Отдельные клетки сферической формы	+	+	» »
<i>Thiodictyon</i>	Отдельные клетки цилиндрической формы	—	+	» »
<i>Thiopedia</i>	Плоские прямоугольные пластинки; клетки сферической формы	—	+	» »
<i>Amoebobacter</i>	Отдельные клетки сферической формы	—	+	» »

¹ Следующие признаки являются общими для всех родов: бинарное деление, подвижные клетки перемещаются посредством полярно прикрепленных жгутиков.

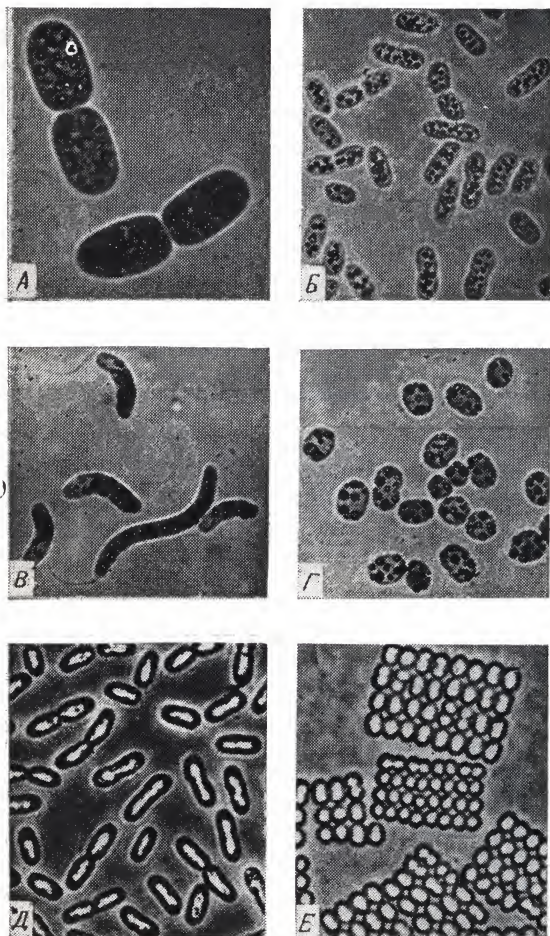
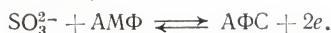


Рис. 17.19. Микрофотографии некоторых типичных представителей пурпурных серных бактерий. А. *Chromatium okenii* ($\times 1400$); Б. *Chromatium vinosum* ($\times 1400$). В. *Thiospirillum jenense* ($\times 1190$). Г. *Thiocystis gelatinosa* ($\times 1400$); Д. *Thiodictyon elegans* ($\times 1400$). Е. *Thiopedia rosea* ($\times 1400$). Микрофотографии А—Г — обычное освещение, Д и Е — фазовый контраст. На микрофотографиях А—Г видны внутриклеточные отложения серы. Ярко светящиеся области клеток на микрофотографиях Д и Е представляют собой газовые вакуоли. (С любезного разрешения Н. Пфеннига.)

нений серы пурпурными серными бактериями сложна и пока точно не установлена. Возможно, в таком окислении участвуют ферментативные механизмы, аналогичные тем, посредством которых происходит окисление восстановленных неорганических соединений серы у аэробных хемоавтотрофов. Хорошо изучен фермент, осуществляющий конечный этап — окисление SO_3^{2-} до SO_4^{2-} . Как у тиобацилл, так и у пурпурных серных бактерий этот этап включает образование производного адениловой кислоты, аденилсульфата (аденозинфосфосульфата, АФС):



Эта реакция катализируется ферментом аденилсульфатредуктазой, имеющим сложную структуру; он содержит ФАД и несколько групп с негеминным железом. У пурпурных

серных бактерий этот фермент содержит также две гемовые группы, которых нет в ферменте *Thiobacillus*.

Окисление H_2S пурпурными серными бактериями всегда приводит к интенсивному, но временному накоплению элементарной серы, поскольку скорость этого первого этапа намного выше скорости последующего окисления серы до SO_4^{2-} . У большинства пурпурных серных бактерий элементарная сера откладывается внутри клетки, образуя преломляющие свет глобулы. Виды *Ectothiorhodospira*, однако, сначала выделяют серу в среду, а затем вновь поглощают ее, проводя дальнейшее окисление. Помимо восстановленных неорганических соединений серы почти все виды данных микроорганизмов могут в качестве восстановителя для ассимиляции CO_2 использовать H_2 .

Фотометаболизм пурпурных серных бактерий, однако, никогда не является облигатно фотоавтотрофным, они могут фотоассимилировать некоторые органические соединения, причем универсальным субстратом является уксусная кислота. Для фотогетеротрофного роста отдельных организмов требуется в небольших количествах H_2S , который они используют как источник серы, поскольку неспособны осуществлять ассимиляционное восстановление сульфата. Единственным органическим фактором роста, в котором нуждаются отдельные виды бактерий, является витамин B_{12} .

ПУРПУРНЫЕ НЕСЕРНЫЕ БАКТЕРИИ

Отличительные особенности родов пурпурных несерных бактерий перечислены в табл. 17.9, а на рис. 17.20 приведены микрофотографии некоторых типичных их представителей. В эту подгруппу, и только в нее, входят пурпурные бактерии, размножающиеся почкованием, а не бинарным делением; к

ТАБЛИЦА 17.9
РОДЫ ПУРПУРНЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ^{1,2}

Род	Форма клеток	Расположение жгутиков	Способ деления клеток	Протекти
<i>Rhodospirillum</i>	Цилиндрическая	Полярное	Бинарное деление	—
<i>Rhodopseudomonas</i>	Цилиндрическая или яйцевидная	»	У одних видов бинарное деление, у других — почкование	—
<i>Rhodomicrobium</i>	Яйцевидная	Перитрихальное	Почкование	+

¹ Общие признаки: клетки всегда подвижные; газовых вакуолей не образуют; внутриклеточного накопления серы не наблюдается.

² Недавно выделен еще один род — *Rhodocyclus*. — Прим. ред.

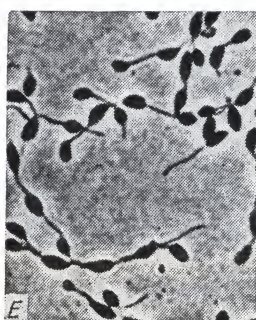
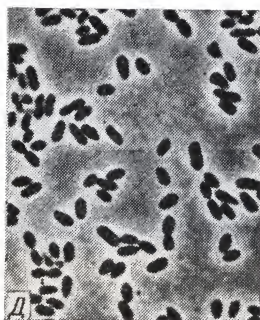
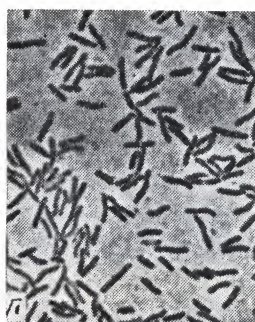
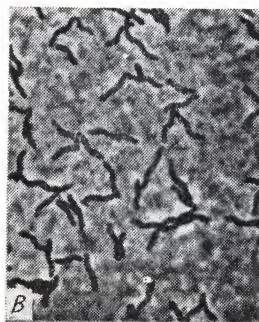
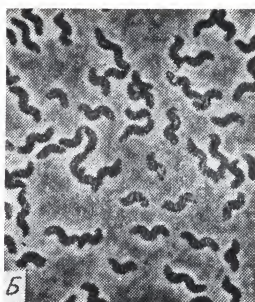
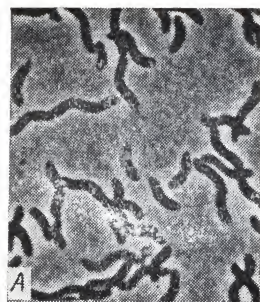


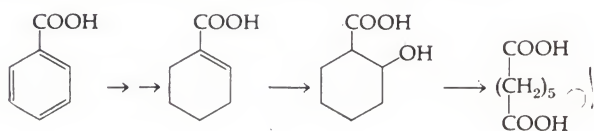
Рис. 17.20. Микрофотографии некоторых типичных представителей пурпурных несерных бактерий. А. *Rhodospirillum rubrum*. Б. *Rhodospirillum fulvum*. В. *Rhodospirillum tenue*. Г. *Rhodopseudomonas gelatinosa*. Д. *Rhodopseudomonas sphaeroides*. Е. *Rhodomicrobium vannielii*. Микрофотографии А—Г — обычное освещение, Д и Е — фазовый контраст. (С любезного разрешения Н. Пфеннига.)

ним относятся род *Rhodomicrobium* и некоторые виды *Rhodopseudomonas*.

Пурпурные несерные бактерии могут осуществлять фотоассимиляцию довольно разнообразных органических соединений — жирных и некоторых других органических кислот, первичных и вторичных спиртов, углеводов и даже ароматических соединений. Виды, способные к дыханию, могут расти в аэробных условиях в темноте, окисляя обычно те же органические субстраты, которые они фотоассимилируют в анаэробных условиях на свету, однако вовсе не обязательно используя те же метаболические пути. Как уже говорилось, фотоассимиляция масляной кислоты обязательно сопряжена

с ассимиляцией CO_2 , но цикл трикарбоновых кислот при этом не функционирует. Когда же масляная кислота служит субстратом для аэробного дыхания в темноте, значительная ее часть окисляется в ацетил-КоА, который затем превращается в CO_2 в цикле трикарбоновых кислот, а в результате окислительного фосфорилирования образуется АТФ.

Правило, состоящее в том, что те органические субстраты, которые пурпурные бактерии способны фотоассимилировать, могут также использоваться и для дыхания, имеет одно интересное исключение. Некоторые из этих организмов фотоассимилируют в анаэробных условиях на свету бензойную кислоту, но совершенно неспособны использовать ее в качестве субстрата для дыхания. Фотометаболизм бензойной кислоты протекает через уникальный *восстановительный* путь, на конечном этапе которого бензойная кислота превращается в насыщенную дикарбоновую кислоту (пимелат):



Катализирующие эти реакции ферменты крайне чувствительны к кислороду, так что фотоассимиляция бензойной кислоты сразу же прекращается, как только клетки приходят в контакт хотя бы со следовыми количествами O_2 . Поскольку у пурпурных бактерий отсутствуют ферменты, которые катализировали бы окислительный путь диссимиляции бензойной кислоты, характерный для аэробных хемогетеротрофов, они неспособны использовать это соединение в качестве субстрата для дыхания.

Как уже указывалось, совсем не все пурпурные несерные бактерии неспособны расти в фотоавтотрофных условиях, используя восстановленные неорганические соединения серы. Давно известно, что один из видов этих бактерий, *Rhodopseudomonas palustris*, использует тиосульфат, а в последнее время обнаружили, что некоторые виды способны окислять H_2S , если его концентрация поддерживается на низком уровне. Однако метаболизм серы у этих бактерий отличен от метаболизма его у пурпурных серных бактерий. Некоторые виды окисляют H_2S только до элементарной серы, выделяемой далее в среду, а другие окисляют его до сульфата, но без промежуточного накопления элементарной серы.

Большинство пурпурных несерных бактерий нуждаются в витаминах, и скорость их роста часто повышается при добавлении аминокислот. Для этих организмов типична потребность в биотине, тиамине и ниацине в различных комбинациях, но характерная для некоторых пурпурных серных бактерий потребность в витамине B_{12} им не свойственна.

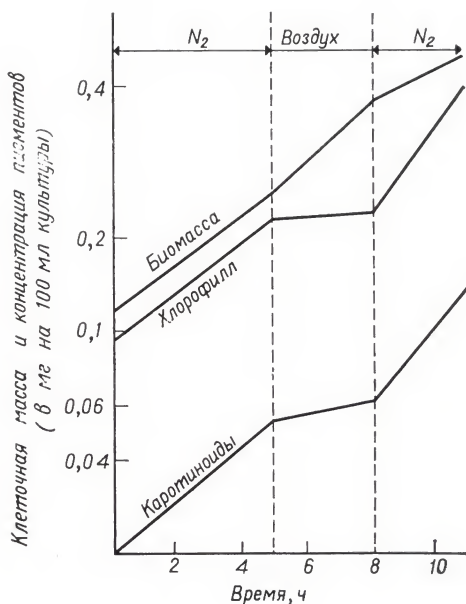


Рис. 17.21. Влияние кислорода на экспоненциально растущую в анаэробных условиях (в атмосфере N_2) на свету культуру несерной пурпурной бактерии *Rhodospseudomonas spheroides*. Замена N_2 на воздух не снижает скорости роста культуры, но приводит к почти полному прекращению синтеза хлорофилла и каротиноидов. Когда спустя примерно 3 ч условия вновь становятся анаэробными, восстанавливается и высокая скорость синтеза пигментов. [Cohen-Bazire G., Sistrom W. R., Stanier R. Y., Kinetic studies of pigment synthesis by non-sulfur purple bacteria, J. Cellular Comp. Physiol. 49, 25 (1957).]

ВЛИЯНИЕ O_2 НА РОСТ ПУРПУРНЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ И НА СИНТЕЗ ПИГМЕНТОВ

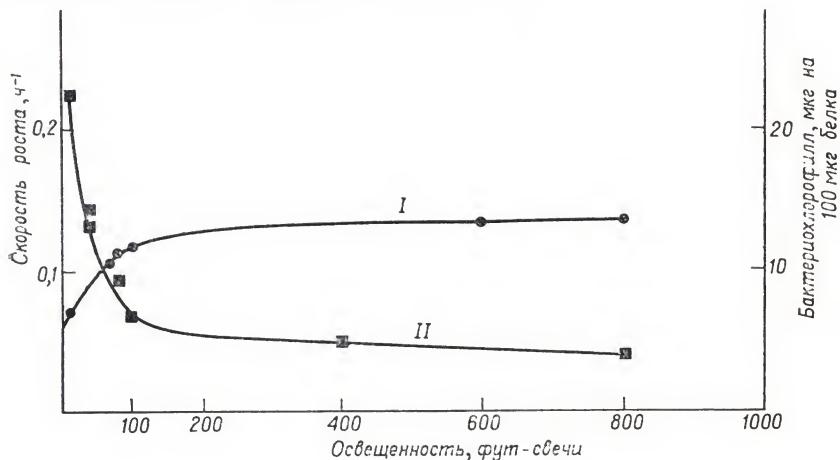
Воздух не оказывает губительного действия на пурпурные несерные бактерии, однако некоторые из них не могут использовать O_2 в качестве конечного акцептора электронов и потому не растут в аэробных условиях в темноте. Другие представители этой группы растут в аэробных условиях в темноте так же быстро, как в анаэробных условиях на свету. Однако при росте в аэробных условиях они довольно быстро почти полностью утрачивают систему пигментов фотосинтеза. Это обусловлено тем, что O_2 даже при относительно низком парциальном давлении подавляет синтез пигментов у пурпурных бактерий, причем это его действие проявляется даже на свету. Тот факт, что обладающие способностью к брожению виды сохраняют высокое содержание пигмента в течение многих поколений при анаэробном росте в темноте, показывает, что для синтеза пигментов свет как таковой не требуется.

Следовательно, при росте пурпурных бактерий в аэробных условиях как в темноте, так и на свету содержащиеся в клетках пигменты постепенно разбавляются. Это чисто физиологическое явление, процесс обратим — пигмент сразу начинает накапливаться, как только клетки возвращаются в анаэробные условия (рис. 17.21). Следовательно, у всех пурпурных бактерий, как анаэробов, так и факультативных

Рис. 17.22. Влияние интенсивности света на скорость роста (кривая I) и удельное содержа-

ние бактериохлорофилла (кривая II) в растущих в фотогетеротрофных условиях в отсутствие O₂

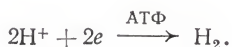
клетках *Rhodospirillum rubrum* (1 фут-свеча = 10,764 лк).



аэробов, фотосинтез возможен только в среде, свободной от O₂. В анаэробных условиях при освещении и скорость роста, и дифференциальная скорость синтеза бактериохлорофилла зависят от интенсивности света. При увеличении интенсивности скорость роста возрастает, а содержание бактериохлорофилла в клетке падает (рис. 17.22).

ФИКСАЦИЯ АЗОТА И ОБРАЗОВАНИЕ ВОДОРОДА

Показано, что многие пурпурные бактерии фиксируют молекулярный азот. Однако эффективный синтез нитрогеназы происходит только в анаэробных условиях. Возможно, это обусловлено тем, что данный фермент в клетках быстро инактивируется кислородом. Пурпурные бактерии, в которых индуцирована нитрогеназная активность, интенсивно образуют H₂, если им дать подходящий органический или неорганический донор электронов и поместить на свету в не содержащую O₂ атмосферу (например, в атмосферу гелия или аргона). Эта любопытная реакция катализируется нитрогеназой, которая характеризуется относительно низкой специфичностью по отношению к субстрату и может восстанавливать ионы водорода:



Поскольку фотофосфорилирование должно поставлять большие количества необходимой для нитрогеназной активности АТФ, эта реакция зависит от света. В таких специальных условиях пурпурные бактерии могут осуществлять полное

анаэробное окисление органических субстратов до CO_2 и H_2 , например окисление уксусной кислоты:



Образование водорода на свету специфически подавляется N_2 . Поскольку N_2 является обычным субстратом для нитрогеназы, подавление им образования H_2 представляет собой конкурентное ингибирование.

ЗЕЛЕННЫЕ БАКТЕРИИ

Зеленые бактерии составляют еще меньшую таксономическую группу, чем пурпурные бактерии. В эту группу входит всего девять видов, относящихся к пяти родам (табл. 17.10). На

ТАБЛИЦА 17.10
РОДЫ ЗЕЛЕННЫХ БАКТЕРИЙ¹

	Форма клеток и образуемые ими скопления	Передвижение за счет скольжения	Газовые вакуоли	Простеки
Зеленые серные бактерии				
<i>Chlorobium</i>	Прямые или изогнутые палочки; отдельные клетки или короткие цепочки	—	—	—
<i>Prosthecochloris</i>	Яйцевидные клетки; отдельные клетки или короткие цепочки	—	—	+
<i>Pelodictyon</i>	Цепочки палочковидных клеток, образующие сетку	—	+	—
<i>Clathrochloris</i>	Цепочки палочек, образующие рыхлые, похожие на решетку агрегаты	—	+	—
Зеленые несерные бактерии¹				
<i>Chloroflexus</i>	Длинные нити, состоящие из палочковидных клеток	+	—	—

¹ К этой группе относятся также другие недавно выделенные зеленые бактерии: *Oscillochloris*, *Chloronema*. — Прим. ред.

рис. 17.23 приведены микрофотографии типичных представителей этой группы. Диапазон изменения ГЦ-содержания ДНК зеленых бактерий довольно узок — от 48 до 58% (рис. 17.12). Весьма интересен параллелизм физиологических свойств и пищевых потребностей бактерий этой группы со свойствами пурпурных бактерий: составляющие большинство представителей этой группы зеленые серные бактерии являются аналогами пурпурных серных бактерий. Однако недавно была об-

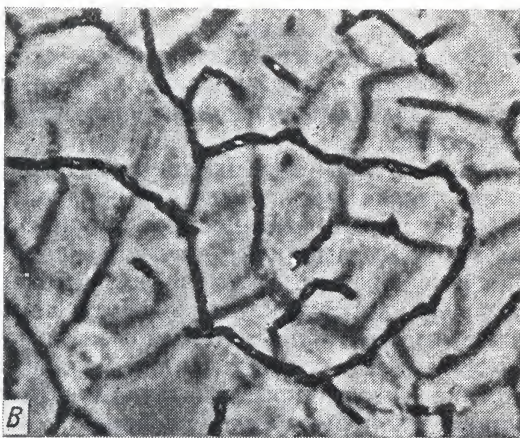
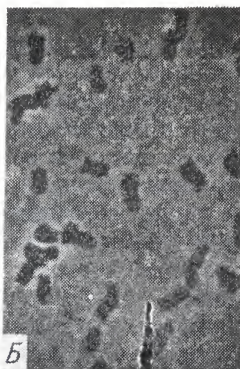


Рис. 17.23. Микрофотографии зеленых серных бактерий (фазовый контраст). А. *Chlorobium limicola* ($\times 1500$). Видны гранулы внеклеточной серы. Б. *Prosthecochloris aestuarii* ($\times 2300$). В световой микроскоп хорошо различима простека, что делает контур клеток неровным. В. *Pelodictyon clathratiforme* ($\times 1500$). Видна характерная сетка, образуемая нитями клеток. В некоторых клетках выявляются светящиеся области, представляющие собой газовые вакуоли. (С любезного разрешения Н. Пфеннига.)

наружена термофильная зеленая бактерия *Chloroflexus*, которая по характеру метаболизма и пищевым потребностям сходна с пурпурными несерными бактериями.

ЗЕЛЕННЫЕ СЕРНЫЕ БАКТЕРИИ

Это небольшие, неподвижные палочковидные бактерии, которые в структурном отношении делятся на четыре рода. Входящие в данную группу организмы являются строго анаэробными фотоавтотрофами, которые в качестве доноров электронов используют H_2S , другие восстановленные неорганические соединения серы или H_2 . Получающаяся при окислении H_2S элементарная сера до окисления ее до сульфата откладывается вне клеток (как у *Ectothiorhodospira*). Поскольку зеленые серные бактерии не могут использовать в качестве источника серы сульфат, при росте с H_2 в качестве донора электронов для удовлетворения своих потребностей в сере они нуждаются в сульфиде. Некоторые из этих микро-

организмов нуждаются также в витамине В₁₂. Как правило, бактерии способны фиксировать молекулярный азот. По всем этим свойствам они явно похожи на пурпурные серные бактерии. Действительно, пурпурные и зеленые серные бактерии обычно сосуществуют в освещенной, богатой сульфидом анаэробной водной среде и области их распространения в значительной степени перекрываются.

Однако эти две группы заметно различаются по используемым ими источникам углерода. Ни один из видов зеленых серных бактерий не может расти фотогетеротрофно, имея в качестве единственного или основного источника углерода органические соединения, если в среде отсутствуют неорганические восстановители. Они могут фотоассимилировать уксусную кислоту, но только в том случае, если одновременно имеются H₂S и CO₂. Эти организмы не образуют поли-β-оксимасляной кислоты в качестве запасного материала, и уксусная кислота ассимилируется исключительно через восстановительный синтез пировиноградной кислоты из ацетил-КоА и CO₂ и, таким образом, служит непосредственным предшественником материала клетки.

Относительно основного пути ассимиляции CO₂ зелеными серными бактериями далеко не все ясно. Предполагается, что первичной реакцией всегда является восстановительный синтез пирувата, а вслед за этим идут другие реакции фиксации CO₂, которые в свою очередь приводят к регенерации ацетил-КоА, так что получается циклический путь фиксации. Однако у зеленых серных бактерий есть рибулозодифосфаткарбоксилаза. Появляется все больше данных, что по крайней мере в отсутствие экзогенного ацетата значительная часть CO₂ ассимилируется через цикл Кальвина. Таким образом, зеленые серные бактерии, вероятно, не составляют исключения из общего правила, состоящего в том, что у всех автотрофов, как фотосинтезирующих, так и хемосинтезирующих, главным путем фиксации CO₂ является цикл Кальвина¹.

ЗЕЛЕНЫЕ НЕСЕРНЫЕ БАКТЕРИИ. ГРУППА *CHLOROFLEXUS*

В 1971 г. Пирсон (В. Pierson) и Кастенхольц (К. Castenholz) открыли новую категорию зеленых бактерий — *Chloroflexus*. Хотя эти организмы по своей структуре, пищевым потребностям, метаболизму и экологии отличаются от зеленых серных бактерий, они явно относятся к последним, поскольку содержат хлоробиум-везикулы, а в качестве основного и минорного хлорофиллов соответственно бактериохлорофиллы *c* и *a*.

Бактерии группы *Chloroflexus* представляют собой пере-

¹ Последние данные свидетельствуют как раз об обратном. Рибулозодифосфаткарбоксилазу у зеленых серных бактерий не находят, и цикл Кальвина у них, по всей видимости, не функционирует. — *Прим. ред.*

двигающиеся путем скольжения нитчатые организмы; нити достигают в длину 300 мкм. Это термофильные бактерии, обильно развивающиеся в нейтральных или щелочных горячих источниках при температурах от 45 до 75°. Массы переплетенных нитей этих бактерий образуют пленки толщиной в несколько миллиметров, цвет которых варьирует от оранжевого до тускло-зеленого. Часто они тесно ассоциированы с одноклеточными термофильными цианобактериями, относящимися к роду *Synechococcus*. Нередко в местах обитания *Chloroflexus* условия бывают частично аэробными. Поскольку кислород подавляет синтез бактериохлорофиллов у *Chloroflexus*, его содержание в пленках этой бактерии часто бывает довольно низким. В этих случаях пигмент в значительной степени маскируется оранжевыми каротиноидами, которые в изобилии образуются бактериями *Chloroflexus* при всех условиях, а также хлорофиллом *a*, содержащимся в сопутствующих клетках *Synechococcus*. Поэтому нити, из которых состоят пленки, долгое время считали скользящими нефотосинтезирующими бактериями. Однако выделение чистых культур *Chloroflexus* четко показало, что они способны осуществлять аноксигенный фотосинтез. Быстрее всего эти организмы растут в сложных средах в анаэробных условиях на свету; в этом случае в нитях высоко содержание бактериохлорофиллов *c* и *a*. В анаэробных условиях в темноте бактерии расти не могут. Но они хорошо растут на сложных средах в аэробных условиях как на свету, так и в темноте, хотя в этом случае содержат очень мало бактериохлорофиллов. Пищевые потребности *Chloroflexus* сложны и пока точно не известны.

Chloroflexus является типичным фотогетеротрофом и факультативным хемогетеротрофом¹. Однако эта бактерия растет в горячих источниках с очень низким содержанием органических веществ, по-видимому, получая их от цианобактерий, с которыми ассоциирована в природе. В лабораторных условиях эти два организма можно успешно поддерживать в виде двухкомпонентных культур, выращиваемых на минеральной среде на свету.

По способу передвижения и по структуре *Chloroflexus* похожи на некоторые нитчатые, не образующие гетероцист цианобактерии. Среди каротиноидов у этого организма присутствует β-каротин, являющийся и основным каротиноидом цианобактерий. Однако по другим своим химическим свойствам, по тонкой структуре клеток и по аноксигенному способу фотосинтеза *Chloroflexus* ближе к зеленым серным бактериям. Поскольку все зеленые серные бактерии неподвижны, было неясно, как они могут быть связаны с подвижными

77 ¹ Недавно обнаружен штамм, растущий в фотоавтотрофных условиях, и штаммы, относящиеся к мезофилам. — *Прим. ред.*

группами прокариот. Однако перемещение *Chloroflexus* путем скольжения показывает, что зеленые бактерии в общем можно отнести к прокариотам, передвигающимся посредством скольжения. В этом отношении они отличаются от пурпурных бактерий, подвижные формы которых перемещаются с помощью жгутиков.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ, НАЛАГАЕМЫЕ АНОКСИГЕННЫМ ФОТОСИНТЕЗОМ

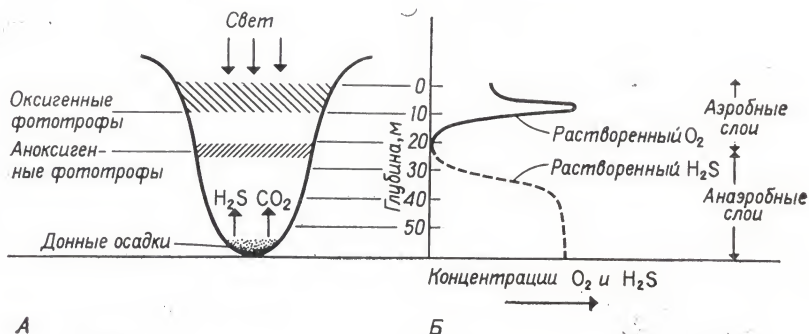
Для осуществления фотосинтеза анаэробными фототрофами необходимы анаэробные условия и либо органические соединения, либо какие-нибудь восстановленные неорганические соединения (кроме воды). Для цианобактерий и фотосинтезирующих эукариот таких ограничений не существует. Поэтому пурпурные и зеленые бактерии обитают лишь в особых условиях и их вклад в фотосинтетическую продуктивность биосферы ничтожен. Все они являются водными организмами и развиваются в таких водоемах, где имеется необходимое, специфичное для этих организмов сочетание анаэробных условий, света и пищи. Такие условия встречаются главным образом в водоемах двух типов, сходных в химическом отношении, но существенно различающихся по спектру проникающего в них света. Во-первых, это мелкие пруды, относительно богатые органическими веществами, CO_2 , H_2 и часто H_2S , который образуется анаэробными бактериями в донных осадках. За исключением околоповерхностного слоя, занятого цианобактериями и водорослями, вода в таких водоемах бедна кислородом. Поэтому пурпурные и зеленые бактерии могут расти близко к поверхности воды, где освещенность достаточно высока, а над ними обычно расположен слой воды, в котором развиваются кислородные фототрофы. Именно здесь реализуется очень важное для развития пурпурных и зеленых бактерий условие — находящиеся выше них кислородные фототрофы пропускают свет в длинноволновой области спектра, который способны поглощать пурпурные и зеленые бактерии. Используемый для фотосинтеза свет далекой красной и инфракрасной областей спектра поглощается почти исключительно бактериохлорофиллами.

Среда второго типа, в которой изобилуют пурпурные и зеленые бактерии, встречается на значительной глубине в некоторых водоемах, особенно в так называемых *меромиктических* озерах, отличающихся тем, что вода в них не перемешивается. На глубине от 10 до 30 м, под более теплым, аэробным верхним слоем воды расположен застойный слой холодной и не содержащей кислорода воды. Анаэробные фототрофы встречаются в узком горизонтальном слое в пределах этого анаэробного слоя воды (рис. 17.24), часто ярко окрашенного из-за содержащихся пурпурных и зеленых бактерий; плотность их здесь намного выше, чем плотность ок-

Рис. 17.24. Схематический разрез меромиктического озера. А. Рас-

пределение кислородных и аноксигенных фототро-

фов. Б. Распределение растворенных O_2 и H_2S .



сигенных фототрофов в верхних, аэробных слоях воды. На той глубине, где пурпурные и зеленые бактерии находят необходимые для их развития анаэробные условия, столб расположенной выше воды сам по себе оказывается эффективным *фильтром*, который пропускает только зеленый и синезеленый свет с длинами волн от 450 до 550 нм. В этом случае свет поглощают в основном каротиноиды, а не бактериохлофиллы. Выделенные из таких мест аноксигенные фототрофы обычно отличаются очень высоким содержанием каротиноидов.

ЭВОЛЮЦИЯ ФОТОСИНТЕЗА

На первых этапах эволюции кислород у поверхности Земли отсутствовал, и наиболее ранние формы жизни получали энергию с помощью процессов анаэробного метаболизма. В настоящее время считается, что живые организмы возникли за счет той органической материи, которая была синтезирована и накоплена на пребиотическом этапе эволюции нашей планеты. Эта органическая материя служила также источником энергии для первых форм жизни. Однако биологическая эволюция быстро завершилась бы, если бы некоторые члены сообщества не приобрели способности использовать свет в качестве источника энергии, используя для этого процесс, аналогичный современному аноксигенному фотосинтезу, хотя он и был, несомненно, гораздо проще. Аноксигенный фотосинтез перестал быть основной формой фототрофного метаболизма лишь примерно 3 млрд. лет назад. К этому времени в биосфере появился молекулярный кислород, причем произошло это почти исключительно в результате развития способности у некоторых представителей первозданного фотосинтезирующего сообщества к кислородному фотосинтезу.

Для этого переворота потребовалась глубокая модификация фотосинтезирующего аппарата, эволюция реакционных центров фотосистемы II, способных окислять воду, что позволило использовать это доступное неорганическое соединение в качестве восстановителя. По мере возрастания концентрации кислорода в биосфере те фототрофы, которые обладали анаэробным механизмом фотосинтеза, постепенно вытеснялись и выживали лишь в анаэробных экологических нишах, причем выживали в основном потому, что обладали специальными улавливающими свет пигментными системами, позволяющими им избежать прямой конкуренции с оксигенными фототрофами за свет. Две такие изолированные группы — пурпурные и зеленые бактерии — продержались до нашего времени.

Свойства, которые присущи ныне живущим цианобактериям, убедительно показывают, что оксигенный фотосинтез возник в рамках прокариотической клетки. Действительно, в самых древних содержащих ископаемые остатки осадочных формациях (флинтах), которые датируются периодом, непосредственно следовавшим за переходом от анаэробной биосферы к аэробной (~1,5 млрд. лет назад), были обнаружены ископаемые микроорганизмы, которые можно идентифицировать как цианобактерии.

На более поздних стадиях биологической эволюции способность осуществлять оксигенный фотосинтез распространилась на определенные линии эукариот. Сначала, вероятно, произошло внедрение в клетку-хозяина фотосинтезирующих прокариотических эндосимбионтов, которые постепенно утратили свою генетическую автономность и превратились в органеллы (хлоропласты). В соответствии с этой гипотезой близкое сходство структуры и функций фотосинтезирующих аппаратов цианобактерий и хлоропластов красных водорослей указывает на то, что последние произошли, вероятно, непосредственно от цианобактерий-эндосимбионтов. Возможные прокариотические предки других типов хлоропластов прослеживаются не столь четко.

ГАЛОБАКТЕРИИ

И ДЕЙСТВИЕ НА НИХ СВЕТА

Среда с высокой концентрацией соли (соленые озера, рассол) заселена большими популяциями весьма специфической, включающей мало видов групп грамотрицательных бактерий — неподвижными кокками (*Halococcus*) и палочками с полярно прикрепленными жгутиками (*Halobacterium*). Эти организмы, хотя и различающиеся формой клеток, обладают рядом общих свойств. Многие из этих свойств связаны с высокой соленостью и высокой освещенностью мест их природного обитания и носят явно приспособительный характер. *Минималь-*

ная концентрация NaCl, при которой возможен их рост, составляет от 2 до 2,5 М, а оптимальная — 4—5 М. Очень высока также и потребность этих организмов в Mg^{2+} (оптимальная концентрация составляет 0,1—0,5 М); потребность же в K^+ ниже (около 0,025 М). Клеточные стенки организмов обеих групп не содержат пептидогликанов. Концентрация соли в клетках этих бактерий по крайней мере так же высока, как и в среде, хотя ионный состав внутри клетки отличается от ионного состава окружающей среды — там содержатся главным образом ионы Na^+ , K^+ и Cl^- . Биохимический аппарат клеток (ферменты, рибосомы) не только нечувствителен к соли, но нуждается в ней и эффективно функционирует только в растворах с почти насыщающими концентрациями соли. Клетки организмов обеих групп содержат уникальные липиды, которые этерифицированы не жирными кислотами, а C_{20} -спиртом (дигидрофитолом), соединенным с глицерином.

Для крайних галофилов характерно то, что в мембраны их клеток включены красные каротиноиды. Показано, что каротиноиды *Halobacterium* защищают клетки от фотохимического повреждения, что немаловажно при той высокой освещенности, которая характерна для природных местообитаний этих бактерий (см. гл. 10, где эта функция каротиноидов обсуждается подробнее).

Крайние галофилы являются аэробными организмами со сложными пищевыми потребностями; обычно их культивируют в средах, содержащих пелтон. В качестве источников энергии и углерода эти организмы предпочитают использовать аминокислоты. Они часто появляются в виде окрашенных пятен на соленой высушенной рыбе или коже, при обработке которых использовалась содержащая эти бактерии соль.

До недавнего времени считалось, что крайние галофилы являются аэробными хемогетеротрофами с исключительно дыхательным метаболизмом. Однако такое представление в отношении *Halobacterium* изменилось в 1971 г. после открытий, сделанных Стокениусом (W. Stoekenius) с сотрудниками. Толчком к этим открытиям послужило одно совершенно неожиданное наблюдение. Если выращивать *Halobacterium* в жидкой среде при недостатке O_2 , то мембрана клеток оказывается химически измененной. У аэробно выращенных клеток мембрана имеет красный цвет из-за высокого содержания в ней каротиноидов; при недостатке же кислорода индуцируется синтез нового, пурпурного компонента мембраны (рис. 17.25). Этот компонент откладывается в виде ряда отдельных пятен, вкрапленных в красную мембрану, которые могут занимать до половины ее поверхности. Эти пурпурные области мембраны легко выявляются на электронных микрофотографиях клеток, обработанных по методу заморажива-

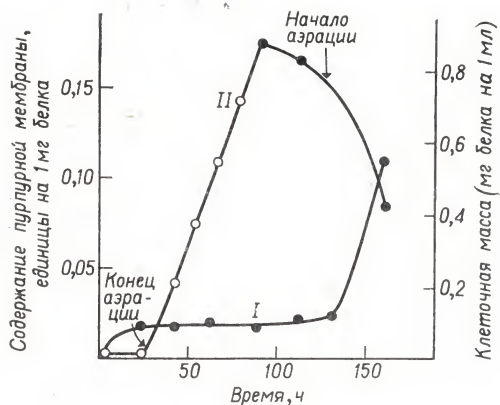


Рис. 17.25. Влияние O_2 на рост клеток (кривая I) и синтез пурпурной мембраны (кривая II) в жидкой культуре *Halobacterium*. После прекращения аэрации культура перестает расти, а на долю пурпурных мембран приходится все большая площадь. При возобновлении аэрации рост культуры восстанавливается, а содержание пурпурных мембран уменьшается. [Oesterhelt D., Stoekenius W., Functions of a new photoreceptor membrane, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 70, 2853 (1973).]

ния — травления, так как по структуре поверхности они отличаются от красной мембраны (рис. 17.26).

Если среду, в которой суспендированы клетки *Halobacterium*, развести, то они лизируются. При этом участки мембраны красного цвета дезагрегируют, а пурпурные области остаются интактными и их можно выделить с помощью дифференциального центрифугирования. Эти области мембраны содержат липид (25% веса сухой биомассы) и лишь один белок, хромопротеид, который был назван *бактериородопсином* из-за его сходства со зрительным пигментом сетчатки позвоночных, родопсином. Оба эти окрашенных белка содержат один и тот же хромофор, ретиналь, представляющий собой каротиноид C_{20} (рис. 17.27); оба они быстро обесцвечиваются под действием света, претерпевая сложную последовательность фотохимических превращений. Обесцвечивание родопсина сопровождается отделением ретинена от белка, тогда как при обесцвечивании бактериородопсина такого отделения не происходит. Когда освещаются выделенные фрагменты пурпурной мембраны, то обесцвечивание бактериородопсина (рис. 17.28) сопровождается высвобождением протонов (рис. 17.29). Оба эти процесса обратимы и в темноте протекают в обратном направлении. Если освещаются интактные клетки *Halobacterium*, которые содержат пурпурную мембрану, то обесцвечивание родопсина сопровождается выделением клетками протонов. Между внутренней и наружной сторонами мембраны устанавливается *градиент концентрации протонов*, который поддерживается все время, пока продолжается освещение. Образование градиента концентрации протонов приводит к тому, что освещенные клетки синтезируют АТФ, что и было выявлено рядом остроумных экспериментов.

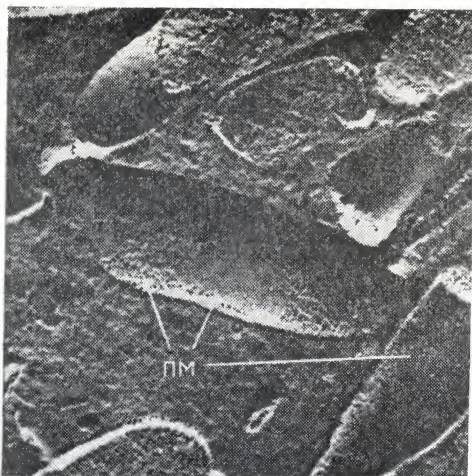


Рис. 17.26. Электронная микрофотография препарата клеток *Halobacterium* в 4,3М NaCl, полученного методом замораживания — травления, видна структура поверхности клеточной мембраны. Пурпурные мембраны (пм) легко выявляются благодаря своей гладкой поверхности. ($\times 35\,000$). (С любезного разрешения В. Стокениуса.)

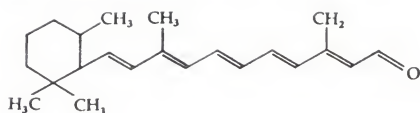


Рис. 17.27. Структурная формула ретиналя. Этот C_{20} -каротиноид является чувствительным к свету хромофором родопсина — хромопротенда глаза позвоночных и одновременно хромофором бактериородопсина хромопротенда пурпурной мембраны *Halobacterium*.

В анаэробных условиях в темноте клетки *Halobacterium* неспособны синтезировать АТФ, и его содержание резко падает. Нормальный уровень АТФ в клетках можно восстановить, либо осветив их, либо аэрировав среду. Результаты опытов по сравнению относительной эффективности света с разными длинами волн при восстановлении содержания АТФ в клетках в анаэробных условиях ясно показывают, что рецептором света в этих клетках является бактериородопсин. Клетки, лишённые пурпурной мембраны, такой реакции на свет не проявляют. Значит, бактериородопсин пурпурной мембраны функционирует как *протонный насос, который приводится в действие светом* и работа которого сопряжена с синтезом АТФ. Таким образом, *Halobacterium* может синтезировать АТФ с помощью механизма фотофосфорилирования, в котором не участвуют хлорофиллсодержащие реакционные центры, как это было характерно для всех известных ранее фотосинтезирующих организмов.

Адаптивная ценность, которую имеет такое устройство в сильно освещённых природных местообитаниях *Halobacterium*, совершенно очевидна. Растворимость O_2 в насыщенных

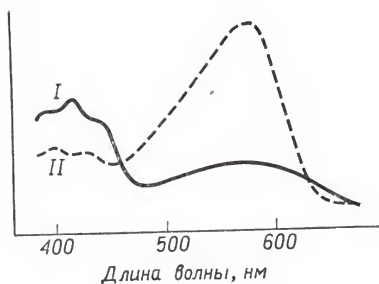


Рис. 17.28. Влияние света на спектр поглощения препарата содержащей бактериородопсин выделенной пурпурной мембраны. Спектры получены при температуре жидкого азота (-196°C). *I* — выдержанный на свету препарат, *II* — препарат, выдержанный в темноте. [Oesterhelt D., Stoeckenius W., Functions of a new photoreceptor membrane, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 70, 2853 (1973).]

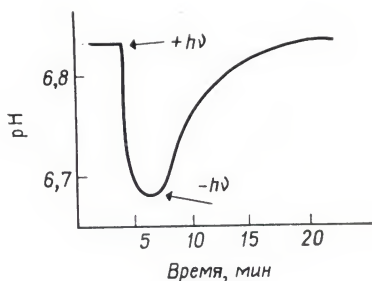


Рис. 17.29. Изменение рН при освещении водной суспензии препарата пурпурной мембраны. Освещение ($+h\nu$) вызывает падение рН (отщепление протонов). После прекращения освещения ($-h\nu$) рН повышается. [Oesterhelt D., Stoeckenius W., Functions of a new photoreceptor membrane, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 70, 2853 (1973).]

растворах соли гораздо ниже, чем в чистой воде. Поэтому *Halobacterium*, обладающие строго аэробным темновым метаболизмом, часто оказываются в условиях с низкой концентрацией растворенного кислорода. В таких условиях dereпрессируется образование пурпурной мембраны, точно так же как при кислородном голодании dereпрессируется синтез бактериохлорофиллов у пурпурных несерных бактерий. В результате *Halobacterium* приобретают способность синтезировать АТФ с помощью такого светового механизма, который может работать и в отсутствие кислорода.

Интересно, что к крайним галофилам относится также и одна пурпурная серная бактерия, *Ectothiorhodospira halophila*. Данный организм является строгим анаэробом и развивается в таких богатых солью местах, где содержится сульфид, что делает эти места неблагоприятными для роста *Halobacterium*. Поэтому экологические ниши упомянутых микроорганизмов не перекрываются.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Carr N. G., Whitton B. A. (eds.) (1973), The Biology of Blue-Green Algae, Oxford, England, Blackwell.
Fogg G. E., Stewart W. D. P., Fay P., Walsby A. E., 1973, The Blue-Green Algae, New York, Academic Press.

Кондратьева Е. Н., 1965, Photosynthetic Bacteria, London, Oldbourne Press.

Обзоры и оригинальные работы

- Danon A., Stoeckenius W. (1974), Photophosphorylation in *Halobacterium halobium*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., **71**, 1234.
- Gest H. (1972), Energy Conversion and Generation of Reducing Power in Bacterial Photosynthesis, Adv. Microb. Physiol., **7**, 243.
- Hansen T. A., van Gernerden H. (1972), Sulfide Utilization by Purple Non-sulfur Bacteria, Arch. Microbiol., **86**, 49.
- Larsen H. (1973), The Halobacteria's Confusion to Biology, Antonie van Leeuwenhoek, **39**, 383.
- Oesterhelt D., Stoeckenius W. (1973), Functions of a New Photoreceptor Membrane, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., **70**, 2853.
- Pfennig N., Trüper H. G., 1974, The Phototrophic Bacteria, in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. (R. E. Buchanan and N. E. Gibbons, eds.), Baltimore, Williams and Wilkins.
- Pfennig N. (1967), Photosynthetic Bacteria, Ann. Rev. Microbiol., **21**, 286.
- Pierson B. K., Castenholz R. W. (1974), A Phototrophic Gliding Filamentous Bacterium of Hot Springs, *Chloroflexus aurantiacus*, gen. and sp. nov., Arch. Microbiol., **100**, 5.
- Stewart W. D. P. (1973), Nitrogen Fixation by Photosynthetic Microorganisms, Ann. Rev. Microbiol., **27**, 283.
- Stanier R. Y., 1974, The Origins of Photosynthesis in Eucaryotes, in Evolution in the Microbial World, Symposium 24, Soc. Gen. Microbiol., London, Cambridge University Press.
- Trüper H. G., Rogers L. A. (1971), Purification and Properties of Adenyl Reductase from the Phototrophic Sulfur Bacterium, *Thiocapsa roseopersicina*, J. Bact., **108**, 1112.
- Van Gernerden H. (1968), Utilization of Reducing Power in Growing Cultures of *Chromatium*, Arch. Microbiol., **64**, 111.

ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ. ХЕМОАВТОТРОФЫ И МЕТИЛОТРОФЫ

В этой главе мы рассмотрим две высоко специализированные по своей физиологии группы аэробных грамотрицательных бактерий. Это *хемоавтотрофы* (иначе называемые хемолитотрофами), которые получают необходимую для их роста энергию за счет окисления неорганических соединений, и *метилотрофы*, которые получают как энергию, так и углерод из метана и других одноуглеродных органических соединений. Хотя эти бактерии сильно отличаются друг от друга, поскольку используют разные источники энергии, они обладают рядом общих весьма интересных черт.

Как хемоавтотрофы, так и метилотрофы делятся в свою очередь на несколько физиологических подгрупп, различающихся по тем специфическим источникам энергии, которые они используют, а также в какой-то степени по тому, насколько хорошо они приспособлены для автотрофного (или метилотрофного) способа жизни. В природе все эти бактерии широко распространены в почве и в воде и играют важную роль в круговороте элементов в биосфере (гл. 25). Число видов в обеих группах невелико, но как по структуре, так и по физиологии они весьма разнообразны.

ХЕМОАВТОТРОФЫ

По определению хемоавтотрофы могут расти в строго минеральной среде в темноте, образуя углерод клеток из CO_2 , а АТФ и восстановитель — при окислении неорганического субстрата в процессе дыхания. Такой способ жизни, встречающийся только у прокариот, был открыт в период между 1880 и 1890 гг. С. Виноградским. Его исследования нескольких основных подгрупп этих организмов заложили прочную основу для всех последующих работ по хемоавтотрофии. Виноградский показал, что хемоавтотрофы характеризуются следующими двумя замечательными свойствами:

1. Обладают высокой специфичностью в отношении неорганического источника энергии.

2. Часто бывают неспособны использовать органические соединения в качестве источников энергии и углерода; более того, органические соединения иногда подавляют их рост.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СУБСТРАТЫ

Из неорганических веществ рост хемоавтотрофов способны поддерживать H_2S и другие восстановленные формы серы, аммиак и нитрит, молекулярный водород и закисное железо

(Fe^{2+}). Часть этих соединений образуется в результате метаболической активности других организмов биосферы, а часть имеет геохимическое происхождение. Следует отметить, что в аэробных условиях некоторые из данных соединений химически неустойчивы. На воздухе H_2S легко окисляется до элементарной серы, а закисное железо, стабильное в кислой среде, самоокисляется в нейтральных и щелочных растворах. Химическая неустойчивость H_2S и Fe^{2+} сильно затрудняет выделение и изучение некоторых организмов, использующих эти субстраты.

ТАБЛИЦА 18.1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППЫ АЭРОБНЫХ ХЕМОАВТОТРОФОВ

Группа		Окисляемый субстрат	Окисленный продукт	Конечный акцептор электронов	Таксономическая структура
Нитрифицирующие бактерии	Окисляющие аммоний	NH_3	NO_2^-	O_2	4 рода, 5 видов
	Окисляющие нитрит	NO_2^-	NO_3^-	O_2	3 рода, 3 вида
Бактерии, окисляющие серу ¹		H_2S , S, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	SO_4^{2-}	O_2 , иногда NO_3^-	3 рода, 10 видов ²
Железобактерии ³		Fe^{2+}	Fe^{3+}	O_2	Несколько родов
Водородные бактерии		H_2	H_2O	O_2 , иногда NO_3^-	Вместе с хемогетеротрофами делятся на несколько родов; более 10 видов

¹ Один из видов может использовать в качестве источника энергии также и Fe^{2+} .

² Учтены только те представители этой группы, которые выделены в виде чистой культуры; многие описанные в природе окисляющие серу бактерии до сих пор не выделены (табл. 18.3).

³ Ни одна из таких бактерий пока в виде чистой культуры не выделена и их способность расти в хемоавтотрофных условиях не показана.

На основании специфичности хемоавтотрофов в отношении субстратов их можно разделить на четыре основные подгруппы (табл. 18.1). *Нитрифицирующие бактерии* используют в качестве источника энергии восстановленные неорганические соединения азота. Представители этой подгруппы обладают очень высокой специфичностью в отношении субстратов. Входящие в нее организмы либо окисляют аммоний до нитрита, либо нитрит до нитрата, но ни одна бактерия подгруппы не может окислять оба эти восстановленные соединения азота одновременно. *Бактерии, окисляющие серу*, используют в качестве источника энергии H_2S , элементарную

Рис. 18.1. Микрофотографии нитрифицирующих бактерий, полученные в фазово-контрастном микроскопе (слева) и электронные микрофотографии тонких срезов этих клеток (справа).

A. Nitrosomonas europaea ($\times 2200$ и $\times 32\,500$).
Б. Nitrosomonas sp. ($\times 2200$ и $\times 39\,600$).
В. Nitrocystis oceanus ($\times 2200$ и $\times 23\,800$).
Г. Nitrosolobus multififormis ($\times 2200$ и $\times 22\,000$).

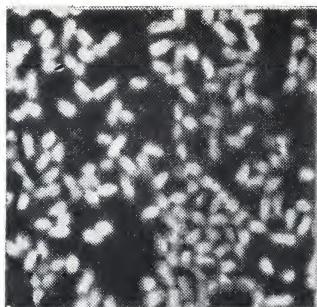
[Watson S. W., Mandel M., Comparison of the morphology and deoxyribonucleic acid composition of 27 strains of nitrifying bacteria, J. Bact., 107, 563 (1971).]

серу или ее частично восстановленные окислы. Все эти вещества они превращают в сульфат. Один из представителей данной группы использует в качестве источника энергии также и закисное железо. Железобактерии окисляют восстановленное железо или марганец, но не восстановленные соединения серы. Однако отнесение этих бактерий к истинным хемоавтотрофам вызывает некоторые сомнения. Водородные бактерии используют в качестве источника энергии молекулярный водород.

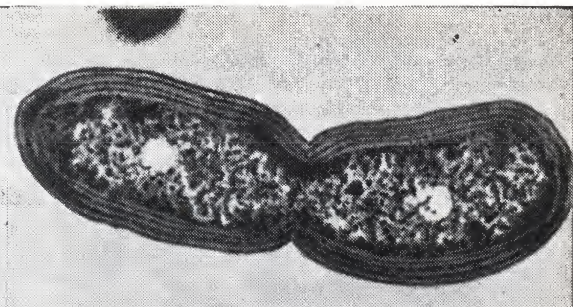
НИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

В середине XIX в. появились косвенные указания на то, что в природе окисление аммония в нитрат осуществляют микробы. Однако многочисленные попытки выделить эти агенты, пользуясь обычными культуральными средами, оказались безуспешными. Это удалось сделать лишь в 1890 г. С. Виноградскому. Используя строго неорганические среды, он смог выделить чистые культуры нитрифицирующих бактерий. Было доказано, что за этот процесс отвечают небольшие граммотрицательные палочковидные бактерии — окисляющие аммоний *Nitrosomonas* и окисляющие нитрит *Nitrobacter*. Для их роста наиболее благоприятны нейтральные или щелочные условия. Поскольку при окислении аммония до нитрита образуется в значительных количествах кислота, среда для выращивания *Nitrosomonas* должна обладать достаточной буферной емкостью (например, в нее должны быть добавлены нерастворимые карбонаты). Оба типа бактерий растут медленно, и минимальное время их удвоения составляет около 24 ч. Невысок также и выход биомассы в расчете на количество окисленного неорганического субстрата. Виноградский показал, что эти бактерии являются облигатными автотрофами, неспособными развиваться в отсутствие специфичного для них неорганического источника энергии.

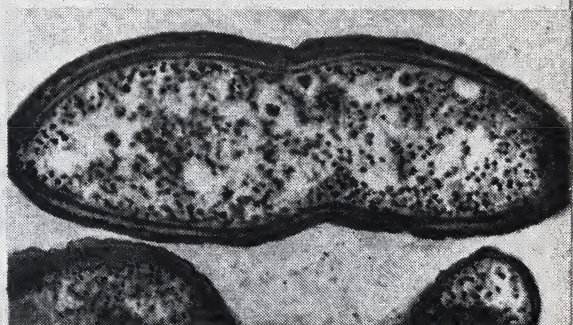
Число открытых в последние годы неизвестных ранее бактерий, окисляющих аммоний и нитрит, весьма невелико. По своей физиологии все они похожи на два упомянутых выше классических прототипа, но удивительно разнородны по структуре (табл. 18.2). Группа нитрифицирующих бактерий невелика и включает всего восемь видов, отнесенных к семи родам, которые различаются по структуре, а также по типу окисляемых субстратов. Вариации в нуклеотидном со-



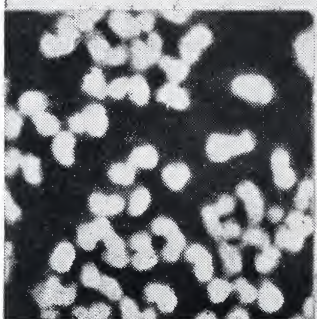
A



Б



В



Г



Рис. 18.2. Микрофотографии нитрифицирующих бактерий, фазовый контраст (слева) и электронные микрофотографии тонких срезов этих клеток (справа). А. *Nit-*

rosospira briensis (×2200 и ×3500).
Б. *Nitrobacter winogradskyi* (×2200 и ×63 200).
В. *Nitrococcus mobilis* (×2200 и ×21 000).
Г. *Nitrospina gracilis*

(×2200 и ×37 500).
[Watson S. W., Mandel M., Comparison of the morphology and deoxyribonucleic acid composition of 27 strains of nitrifying bacteria, J. Bact., 107, 563 (1971).]

ставе ДНК как среди бактерий, окисляющих аммоний, так и среди бактерий, окисляющих нитрит, невелики, причем у последних ГЦ-содержание существенно выше, чем у первых.

Разнообразие форм клеток нитрифицирующих бактерий соответствует удивительное разнообразие их тонкой структуры. У некоторых родов этих бактерий цитоплазматическая мембрана образует обширные, проникающие далеко в глубь клетки везикулярные, ламеллярные или трубчатые разрастания (рис. 18.1 и 18.2), тогда как у других такие разрастания отсутствуют.

Как правило, нитрифицирующие бактерии являются облигатными автотрофами. Исключение составляют некоторые

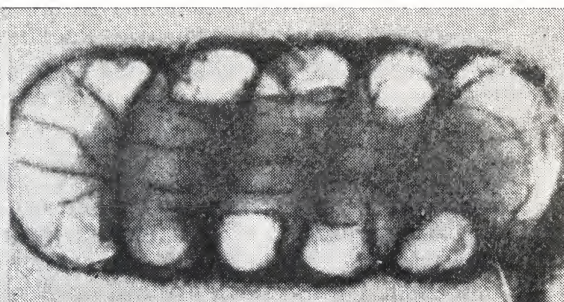
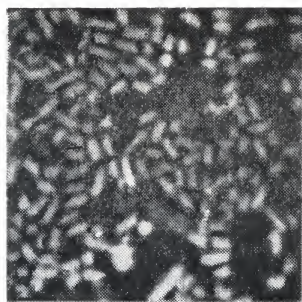
ТАБЛИЦА 18.2

НИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

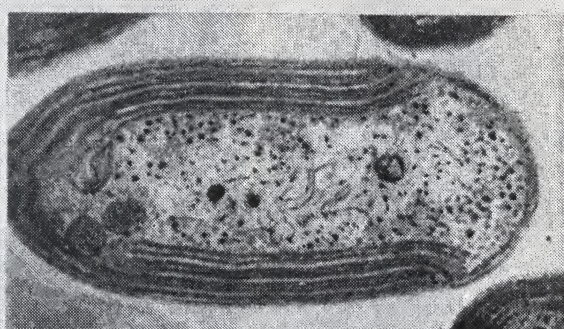
Реакция, представляющая энергию	Форма клеток	Характер жгутикования	Мембранные разрастания	ГЦ-содержание ДНК, %	Облигатная автотрофность	Род
$\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$	Палочковидные	Субполярный ²	Ламеллярные	50—51	+	<i>Nitrosomonas</i>
	Туго закрученные спиральные	Перитрихальный ²	Отсутствуют	54	+	<i>Nitrosospira</i>
	Сферические	Перитрихальный ²	Ламеллярные	50—51	+	<i>Nitrosococcus</i>
	Неправильной формы, дольчатые	Перитрихальный ²	Везикулярные	54—55	+	<i>Nitrosolobus</i>
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$	Палочковидные, часто грушевидные ¹	—	Ламеллярные	60—62	+	<i>Nitrobacter</i>
	Длинные, тонкие палочки	—	Отсутствуют	58	+	<i>Nitrospina</i>
	Сферические	Полярный	Трубчатые	61	+	<i>Nitrococcus</i>

¹ Размножаются почкованием; все остальные нитрифицирующие бактерии размножаются бинарным делением.

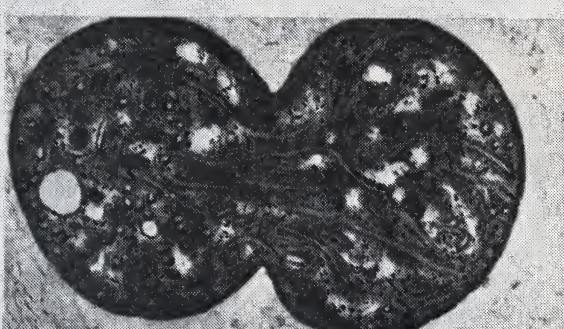
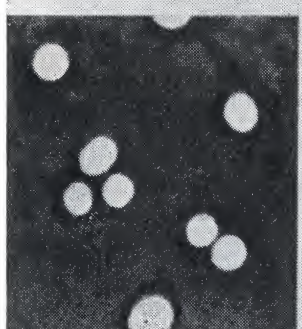
² Некоторые штаммы неподвижны.



A



Б



В



Г

штаммы *Nitrobacter*, использующие в качестве источника углерода и энергии уксусную кислоту. Однако эти штаммы растут на ацетате гораздо медленнее, чем на пнитрате.

БАКТЕРИИ, ОКИСЛЯЮЩИЕ СЕРУ

При изучении хемоавтотрофии С. Виноградский исследовал свойства хемотрофных нитчатых скользящих бактерий группы *Beggiatoa-Thiothrix*, присутствующих в ряде мест, богатых сульфидами и часто содержащих включения элементарной серы. Он показал, что эти организмы могут окислять H_2S , превращая его сначала в элементарную серу, которая и накапливается в клетках. Впоследствии отложенная в клетках сера окисляется до сульфата. Позднее было показано, что множество других аэробных бактерий (рис. 18.3) окисляют H_2S аналогичным образом, в результате чего внутри клеток временно откладывается сера (табл. 18.3). Однако из-за тех-

ТАБЛИЦА 18.3

БАКТЕРИИ, ОКИСЛЯЮЩИЕ H_2S С ОБРАЗОВАНИЕМ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ОТЛОЖЕНИЙ СЕРЫ, НЕ ВЫДЕЛЕННЫЕ В ВИДЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР

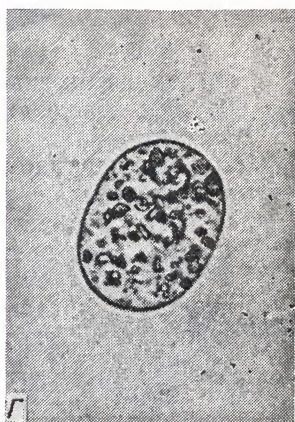
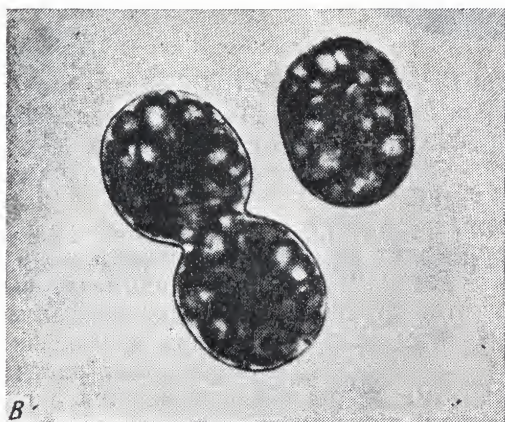
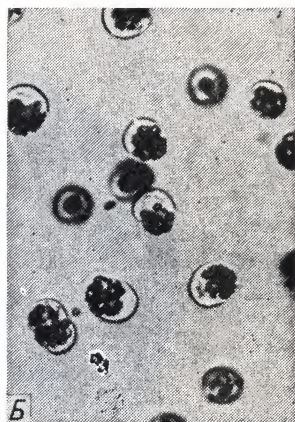
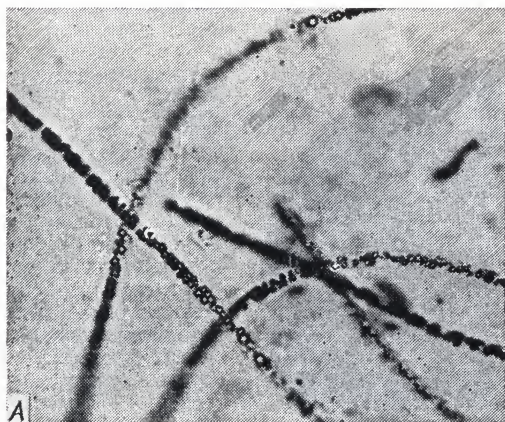
-
1. Нитчатые скользящие организмы:
Beggiatoa, Thiothrix, Thioploca
 2. Очень крупные одноклеточные скользящие организмы:
Achromatium
 3. Одноклеточные неподвижные или передвигающиеся с помощью жгутиковых организмы с палочковидными или спиральными клетками:
Клетки палочковидные, неподвижные: *Thiobacterium*
Клетки палочковидные с полярно расположенными жгутиками: *Mastromonas*
Круглые или яйцевидные клетки с перитрихальными жгутиками: *Thiovulum*
Спиральные клетки с полярно расположенными жгутиками: *Thiospira*
-

нических трудностей, возникающих при выращивании этих бактерий в аэробных условиях за счет использования H_2S , получить чистую культуру не удалось ни для одного из перечисленных в табл. 18.3 организмов. Наши знания об этой физиологической группе хемоавтотрофов основываются почти исключительно на исследованиях одноклеточных окисляющих серу организмов, небольших по размеру и не накапливающих серу внутри клеток (рис. 18.4). Представителей данной группы легко получить в виде чистых культур и вырастить (рис. 18.5), поскольку они способны окислять химически стабильные восстановленные соединения серы, в особенности тиосульфат или элементарную серу. Большинство этих бактерий представляют собой небольшие палочки с полярно расположенными жгутиками; они относятся к роду *Thiobacillus* и широко распространены как в морской среде,

Рис. 18.3. Некоторые крупные бесцветные окисляющие серу бактерии, откладывающие серу внутри клеток. А. Нити из клеток *Beggiatoa* ($\times 900$). Б. *Thiovulum* ($\times 701$). В. и Г. *Achromatium* ($\times 700$). Эта крупная бактерия содержит многочисленные включения карбоната кальция, различные на

фотографии В. Клетка, представленная на фото Г, обработана разведенной уксусной кислотой, которая растворяет включения карбоната кальция, в результате чего выявляются присутствующие в этой клетке гранулы серы. (С любезного разрешения Ж. Ла Ривьера.) [А — из работы La Rivière J. W. M.,

The microbial sulfur cycle and some of its implications for the geochemistry of sulfur isotopes. *Geologischer Rundschau* 55, 568 (1966); В и Г — из работы De Boer W. E., La Rivière J. W. M., Schmidt K. Some properties of *Achromatium oxaliferum*, Antony van Leeuwenhoek, 37, 553 (1971).]



так и на суше. Бактерии с клетками спиральной формы, *Microthiospira*, встречаются в морском иле, а бактерии с клетками неправильной формы, *Sulfolobus*, обитают лишь в термальных источниках (табл. 18.4). Свойства некоторых видов *Thiobacillus* приведены в табл. 18.5. Следует отметить,

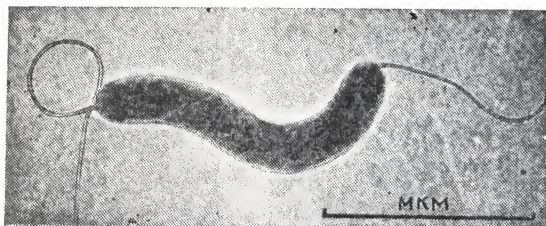


Рис. 18.4. Бесцветная окисляющая серу бактерия *Thiomicrospira*. На электронной микрофотографии видны полярно расположенные жгутики. [Kuenen J. G., Veldkamp H., *Thiomicrospira pelophila*, gen. n., sp. n., a new obligately chemolithotrophic colorless sulfur bacterium, *Antonie van Leeuwenhoek*, 38, 241 (1972).]



Рис. 18.5. Колонии *Thiobacillus thioparus*, выросшие в чашке с минеральной агаризованной средой и тиосульфатом в качестве источника энергии. Колонии имеют бледно-желтую окраску и очень сильно преломляют свет, что обусловлено наличием отложенной элементарной серы между клетками.

что диапазон значений ГЦ-содержания ДНК организмов этой группы довольно широк, особенно среди тиобацилл. Обширных мембранных разрастаний, которые характерны для многих нитрифицирующих бактерий, нет ни у одной из мелких окисляющих серу бактерий.

Эти организмы хорошо растут в автотрофных условиях, причем если рост происходит за счет тиосульфата, то время генерации составляет всего 2 ч. Общим примечательным свойством организмов этой группы является их толерантность к кислоте. Некоторые виды могут расти при крайне низких значениях pH, вплоть до 1 или 2, и неспособны расти при pH выше 6. Эти организмы часто обнаруживаются в специфических местообитаниях, где низкое значение pH поддерживается в результате их собственной метаболической активности. Термофильная бактерия *Sulfolobus* встречается в кислых, богатых серой горячих источниках, где сульфид, имеющий геохимическое происхождение, при высокой температуре воды (70—85°C) на воздухе немедленно превращается в элементарную серу. *Sulfolobus* растет на частицах

ТАБЛИЦА 18.4

ОКИСЛЯЮЩИЕ СЕРУ ХЕМОАВТОТРОФЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ В ВИДЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР

	<i>Thiobacillus</i>	<i>Thiomicrospira</i>	<i>Sulfolobus</i>
Форма клетки	(8 видов) Палочковидная	(1 вид) Спиральная	(1 вид) Сферическая, дольчатая
Расположение жгутиков	Полярное	Полярное	Клетки неподвижны
ГЦ-содержание ДНК, %	34—70	48	60—68
Область значений pH, в которых возможен рост	Варьирует	5,0—8,5	0,5—6,0
Автотрофность	Варьирует	Облигатная	Факультативная

ТАБЛИЦА 18.5

СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *THIOBACILLUS*

	<i>T. thiooxidans</i>	<i>T. thioparus</i>	<i>T. ferrooxidans</i>	<i>T. novellus</i>	<i>T. intermedius</i>
Облигатная автотрофность	+	+	Варьирует	—	—
Источники энергии:					
H ₂ S, S, S ₂ O ₃ ²⁻	+	+	+	+	+
Fe ²⁺	—	—	+	—	—
Глутаминовая кислота	—	—	—	+	+
Глюкоза	—	—	+(некоторые штаммы)	—	+
Область значений pH, в которой возможен рост	0,5—6,0	4,0—7,5	1,4—6,0	5,0—9,2	2,0—7,0

серы (рис. 18.6), которая служит для нее окисляемым субстратом.

Тиобациллы изобилуют в особых условиях, которые возникают в результате деятельности человека. Это, например, откачиваемые из шахт кислые дренажные воды, содержащие минералы сульфидов металлов, в особенности пирит (FeS₂). В таких местах преобладают крайне ацидофильные виды *Thiobacillus thiooxidans*, которые быстро окисляют элементарную серу, и *T. ferrooxidans*, которые могут получать энергию как при окислении восстановленных соединений серы, так и при окислении Fe²⁺. Поскольку последний вид способен расти при pH от 2 до 4, когда закисное железо химически

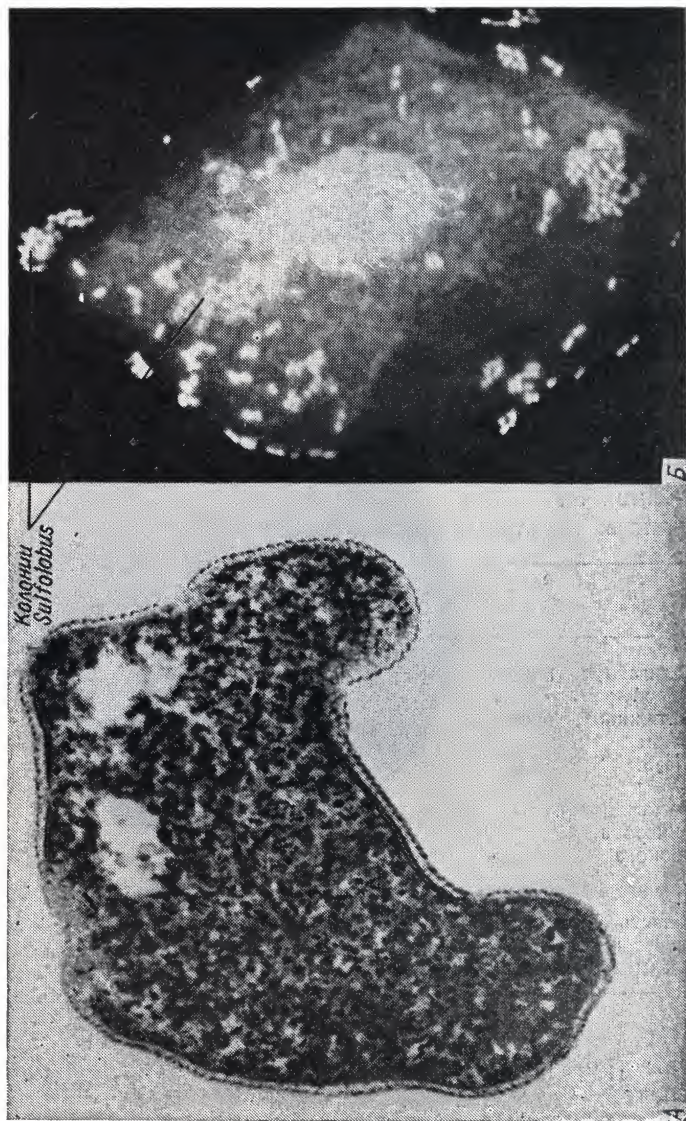


Рис. 18.6. Бактерия *Sulfolobus acidophilus*. А. Электронная микрофотография тонкого среза клетки ($\times 83\,000$). [Brock T. D., Brock K. M., Belly R. T., Weiss R. L., Arch. Microbiol., 84, 64, 1972.] Б. Полученная в микроскопе микрофотография окрашенных акридиновым оранжевым клеток, связанных с кристаллом элементарной серы ($\times 750$).

устойчиво, можно считать твердо установленным, что этот организм растет в хемоавтотрофных условиях, используя реакцию



Для классических «железобактерий», которые развиваются при более высоких рН (см. следующий раздел), этот факт пока нельзя считать доказанным.

Как и в случае нитрифицирующих бактерий, не все окисляющие серу бактерии являются облигатными хемоавтотрофами. *Sulfolobus* и некоторые тиобациллы способны расти, используя органические источники углерода и энергии, однако субстратом для них могут быть лишь глюкоза и немногие из аминокислот. Одна из тиобацилл, *T. intermedius*, способна расти в хемоавтотрофных условиях в присутствии тиосульфата, но на минеральной среде с глюкозой в качестве источника углерода и энергии она может расти только в том случае, если в такую среду добавлен дрожжевой экстракт. Этот парадокс был разрешен недавно, когда обнаружили, что *T. intermedius* нуждается в обязательном источнике восстановленной серы и эту потребность можно удовлетворить за счет либо тиосульфата, либо серосодержащей аминокислоты.

Быстрый рост тиобацилл и способность их использовать довольно разнообразные питательные вещества делают эти организмы наиболее удобным объектом при экспериментальном исследовании проблем физиологии хемоавтотрофного способа жизни.

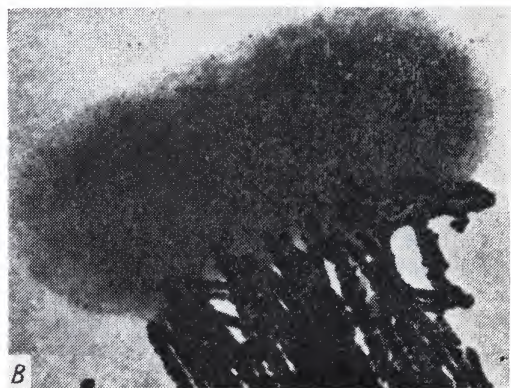
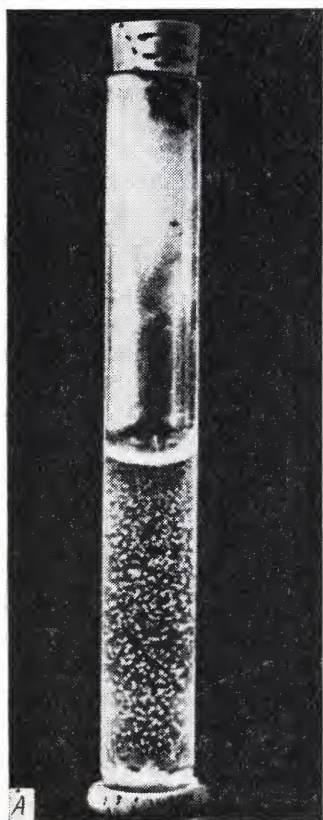
ЖЕЛЕЗОБАКТЕРИИ

В некоторых водоемах с пресной водой содержатся в высоких концентрациях восстановленные соли железа. Уже давно известно, что таким местам присуща характерная бактериальная флора. Железобактерии образуют природные колонии, покрытые коркой окиси железа. Большинство железистых источников нейтральные или щелочные, и при контакте с воздухом закисное железо быстро спонтанно окисляется, поэтому доказать его роль в метаболизме этих бактерий было очень трудно. Наиболее типичными представителями железобактерий являются нитчатые, заключенные в чехол бактерии группы *Sphaerotilus*; у многих из них чехол инкрустирован окисью железа. Их легко выращивать в хемогетеротрофных условиях, а значит, и выделять в виде чистой культуры. Показано, что такие чистые культуры накапливают в чехлах окись железа, но его значение для физиологии этих бактерий и их способность развиваться как хемоавтотрофы не доказаны. Более очевидной представляется способность к хемоавтотрофному росту для другой, имеющей характерную структуру железобактерии, *Gallionella*. Все попытки получить культуры *Gallionella* в органических средах

Рис. 18.7. Железобактерия *Gallionella*. А. Вырастающие в жидкой культуре на стенках стеклянного сосуда хлопьевидные колонии, состоящие в основном из гидроокиси железа. Б. Микрофотография края колонии, полученная в

световом микроскопе ($\times 2430$). Видно, что клетки прикреплены к кончикам ветвистого стебелька. В. Электронная микрофотография отдельной клетки, прикрепленной к кончику пропитанного гидроокисью железа стебелька.

[А и Б — из работы Kucera S., Wolfe R. S., A selective enrichment method for *Gallionella ferruginea*, J. Bacteriol. 74, 347 (1957); В — из книги Principles and Applications in Aquatic Microbiology, chap. 5, New York: Wiley, 1964.]



были безуспешными; в лабораторных условиях ее можно выращивать (хотя и не в виде чистой культуры) на минеральной среде, содержащей в качестве минерального источника восстановленного железа осадок сульфида железа. Использование этой фактически нерастворимой соли железа сводит к минимуму трудности, связанные со спонтанным окислением железа при pH около 7,0. В таких культурах *Gallionella* образует на стенках сосуда хлопьевидные колонии. Они состоят в основном из неорганического материала, а малень-

кие бобовидные клетки этой бактерии располагаются на разветвленных кончиках пропитанных гидроокисью железа стержней (рис. 18.7).

ВОДОРОДНЫЕ БАКТЕРИИ

Многие виды аэробных бактерий способны расти в хемоавтотрофных условиях в присутствии молекулярного водорода. В отличие от других групп хемоавтотрофов все водородные бактерии могут использовать самые разные питательные вещества, а в качестве источников углерода и энергии — широкий спектр органических соединений. Первоначально большинство этих бактерий выделяли в особый род, *Hydrogenomonas*. Однако оказалось, что на основании факультативной хемоавтотрофности такие бактерии нельзя относить к иному роду, чем подобные им, но хемогетеротрофные организмы. Поэтому теперь водородные бактерии делят на несколько родов, которые включают также сходные по фенотипу неавтотрофные бактерии (табл. 18.6). Некоторые водородные бак-

ТАБЛИЦА 18.6
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКУЛЬТАТИВНО ХЕМОАВТОТРОФНЫХ ВОДОРОДНЫХ БАКТЕРИЙ ПО РОДАМ

Форма клеток	Окраска по Граму	Прикрепление жгутиков	ГЦ-содержание ДНК, %	Род	Виды, окисляющие H ₂
Палочки	—	Полярное	61—72	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. saccharophila</i> <i>P. facilis</i> <i>P. ruhlandii</i>
Палочки	—	Перитрихальное	67—68	<i>Alcaligenes</i>	<i>A. eutrophus</i> <i>A. paradoxus</i>
Кокки	—	—	66	<i>Paracoccus</i>	<i>P. denitrificans</i>
Разветвленные палочки	+	—	65—70	<i>Nocardia</i>	<i>N. opaca</i>

терии явно близки к неавтотрофным видам. Например, водородная бактерия *Pseudomonas facilis* фенотипически очень похожа на неавтотрофную бактерию *P. delafieldii* и, исходя из результатов опытов по гибридизации ДНК in vitro, генетически весьма близка к этому виду.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ОСНОВА ХЕМОАВТОТРОФИИ

Убедительно показано, что у всех физиологических групп хемоавтотрофов ассимиляция CO₂ происходит через реакции цикла Кальвина (см. гл. 7). Выращенные в хемоавтотрофных условиях клетки характеризуются высоким содержанием двух специфичных для данного метаболического пути ферментов—

рибулозодифосфаткарбоксилазы и фосфорибулокиназы. Однако у факультативно автотрофных тиобацилл и у водородных бактерий синтез этих двух ферментов часто в той или иной степени подавляется, если клетки выращиваются на органических субстратах. Многие облигатно автотрофные тиобациллы и нитрифицирующие бактерии имеют особые характерные для прокариот образования, карбоксисомы, содержащие рибулозодифосфаткарбоксилазу (гл. 11).

Для осуществления ассимиляции CO_2 хемоавтотрофы должны получать и АТФ, и восстановитель (восстановленный пиридиннуклеотид) путем окислительной диссимиляции неорганического субстрата. По урожаю биомассы (табл. 18.7)

ТАБЛИЦА 18.7

УРОЖАЙ БИОМАССЫ НЕКОТОРЫХ ХЕМОАВТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ¹

Организм	Биомасса
<i>Pseudomonas facilis</i>	12 г на 1 г-моль H_2
<i>Thiobacillus neapolitanus</i>	4 г на 1 г-моль $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	0,35 г на 1 г-атом Fe^{2+}

¹ Урожай выражен в граммах сухой биомассы клеток, синтезированной на грамм-молекулу или грамм-атом окисленного субстрата.

можно оценить относительную эффективность их получения разными организмами.

ОКИСЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

В принципе генерация как АТФ, так и восстановленного пиридиннуклеотида не представляет особых сложностей, если окисление неорганического субстрата сопряжено, подобно окислению органических субстратов, с восстановлением НАД^+ . Часть образованного таким образом $\text{НАД}\cdot\text{H}$ может окисляться в дыхательной цепи переноса электронов, что сопровождается синтезом АТФ при окислительном фосфорилировании, а часть использоваться для осуществления восстановительных реакций ассимиляции углерода. По-видимому, именно такая ситуация и имеет место у водородных бактерий, поскольку показано, что некоторые из них обладают растворимой гидрогеназой, которая катализирует реакцию



Этот фермент, выделенный из клеток *Nocardia opaca*, обладает двумя интересными свойствами. Во-первых, он чувствителен к кислороду и инактивируется на воздухе в нейтральной среде, а во-вторых, для его работы необходимы ионы Ni^{2+} , которые могут быть заменены на Mg^{2+} (правда, с частичной потерей активности фермента).

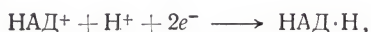
Эти особенности гидрогеназы проливают свет на некоторые казавшиеся ранее странными особенности питания водородных бактерий. Так, было известно, что хотя окисляющие водород псевдомонады при выращивании на органических субстратах ведут себя как обычные аэробные организмы, некоторые из них при хемоавтотрофном росте становятся микроаэрофильными и развиваются за счет H_2 только тогда, когда парциальное давление кислорода оказывается значительно ниже, чем при обычных условиях в атмосфере. При хемоавтотрофном росте водородная бактерия *Alcaligenes eutrophus* нуждается в Ni^{2+} (который ранее не считался необходимым для бактерий элементом), тогда как при росте на органических субстратах никель этой бактерии не нужен.

**ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ
И СИНТЕЗ ВОССТАНОВЛЕННЫХ
ПИРИДИННУКЛЕОТИДОВ
У ДРУГИХ ХЕМОАВТОТРОФОВ**

Механизмы, посредством которых хемоавтотрофы, отличные от водородных бактерий, удовлетворяют свои синтетические потребности при окислении субстрата, представляются гораздо более сложными. В качестве примера можно рассмотреть бактерии, которые окисляют нитрит. У бактерий этой группы при окислении субстрата высвобождается только одна пара электронов:



Однако потенциал пары NO_2^-/NO_3^- ($E'_0 = +0,42$ В) гораздо выше потенциала, необходимого для осуществления сопряженной реакции



для которой E'_0 составляет $-0,32$ В.

Полученные из бесклеточных экстрактов *Nitrobacter* фракции частиц обладают системой переноса электронов и могут катализировать окисление нитрита кислородом. Исследование такой системы показало, что в ходе этой реакции происходит перенос электронов от нитрита на O_2 через цитохромы a_1 и a_3 , который сопровождается синтезом 1 моля АТФ на 1 моль окисляемого субстрата (рис. 18.8). Таким образом, механизм генерации АТФ при таком типе хемоавтотрофии становится вполне понятным, но способ образования восстановленного пиридиннуклеотида по-прежнему неясен. Проведенные недавно исследования показали, что $НАД^+$ в бесклеточной системе восстанавливается нитритом при добавлении в систему АТФ, который затрачивается на обратный перенос электронов от восстановленного цитохрома a_1 (первого акцептора электронов в цепи переноса). Как схематически показано на рис. 18.9, для осуществления реакций, приводящих к восстановлению $НАД^+$, требуется несколько молей

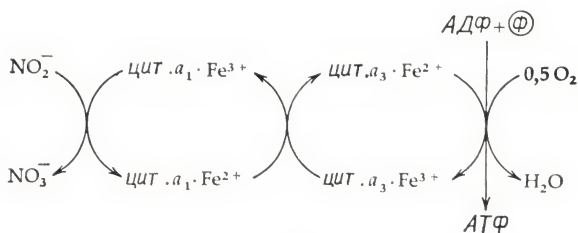
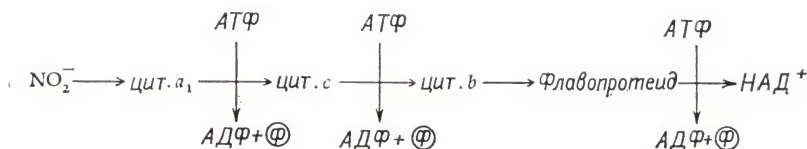


Рис. 18.8. Сопряжение синтеза АТФ с окислением нитрита у *Nitrobacter*.

Рис. 18.9. Возможный путь энергезависимого обратного переноса электронов от нитрита к НАД⁺ у *Nitrobacter*.



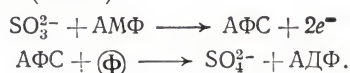
АТФ. Таким образом, часть энергии, полученной при окислении нитрита молекулярным кислородом (через посредство конечных компонентов цепи переноса), должна быть затрачена на то, чтобы перенести электроны от нитрита против термодинамического градиента и восстановить пиридиннуклеотид.

Полученные недавно данные показывают, что аналогичные процессы обратного переноса электронов требуются и для восстановления пиридиннуклеотидов за счет других неорганических субстратов, которые могут окислять хемоавтотрофы (Fe^{2+} , NH_3 и восстановленные соединения серы). Однако ни одна из этих систем не изучена пока так детально, как система окисления нитрита. Более того, во многом невыясненными остаются этапы реакций и биохимические механизмы, которые функционируют при окислении аммиака до нитрита и при окислении соединений восстановленной серы до сульфата. При окислении аммиака (валентность N равна -3) до нитрита (валентность N равна $+3$) атом азота теряет шесть электронов. Следовательно, этот процесс протекает с участием по крайней мере двух промежуточных продуктов, в которых атом азота имеет промежуточные валентности. Есть веские данные в пользу того, что первый этап этого процесса катализируется оксигеназой, которая присоединяет к аммиаку полученный от O_2 атом кислорода, в результате чего образуется гидроксилламин (NH_2OH) (валентность N равна -1). Каковы последующие этапы процесса, пока не известно. Возможно, имеет место следующая цепь реакций:



При окислении H_2S до сульфата теряется восемь электронов. Поскольку у многих окисляющих H_2S хемолитотрофов наблюдается быстрое внутриклеточное накопление элементарной серы, есть все основания считать, что это вещество

является первым стабильным промежуточным продуктом, хотя ферментативный механизм его образования неизвестен. Предпоследним промежуточным продуктом является сульфит. Природа реакций, приводящих к его образованию, остается неясной, хотя предложено несколько возможных вариантов. Механизм окисления сульфита до сульфата и ферменты, участвующие в этом процессе, твердо установлены. Это единственная связанная с окислением неорганического соединения реакция, которая позволяет запастись энергией на уровне субстратного фосфорилирования, поскольку протекает с образованием аденилированного промежуточного соединения аденилилсульфата (АФС):



Так как с помощью реакции, катализируемой аденилаткиназой, из АДФ может быть образован АТФ:



в результате фосфорилирования АМФ на уровне субстрата образуется АТФ.

ЯВЛЕНИЕ ОБЛИГАТНОЙ АВТОТРОФИИ

Исходя в основном из своего опыта работы с нитрифицирующими бактериями, Виноградский предположил, что неспособность расти за счет использования органических субстратов является обязательным свойством хемоавтотрофов. Позднее оказалось, что это не так: хотя облигатная автотрофность действительно характерна почти для всех нитрифицирующих бактерий, среди бактерий, окисляющих серу, этот признак варьирует, а у водородных бактерий нацело отсутствует. Было сделано много попыток как-то объяснить это и понять, почему данный признак распределен среди основных физиологических групп хемоавтотрофов неслучайным образом.

Большинство хемоавтотрофов могут накапливать внутри клеток оба или один из двух характерных для прокариот органических запасных полимеров (гликоген и поли-β-оксимасляную кислоту). Эти вещества, по-видимому, составляют у них (как и у других бактерий) эндогенные резервы углерода и энергии. Следовательно, есть основания считать, что хемоавтотрофы обладают биохимическим аппаратом для метаболизма этих запасных материалов.

Одно из объяснений, почему данные организмы не могут использовать в качестве источников углерода и энергии экзогенные органические соединения, могло бы состоять в том, что у них отсутствуют соответствующие пермеазы, так что органические соединения не могут проникать внутрь клеток. Однако опыты, проведенные с многими облигатными окис-

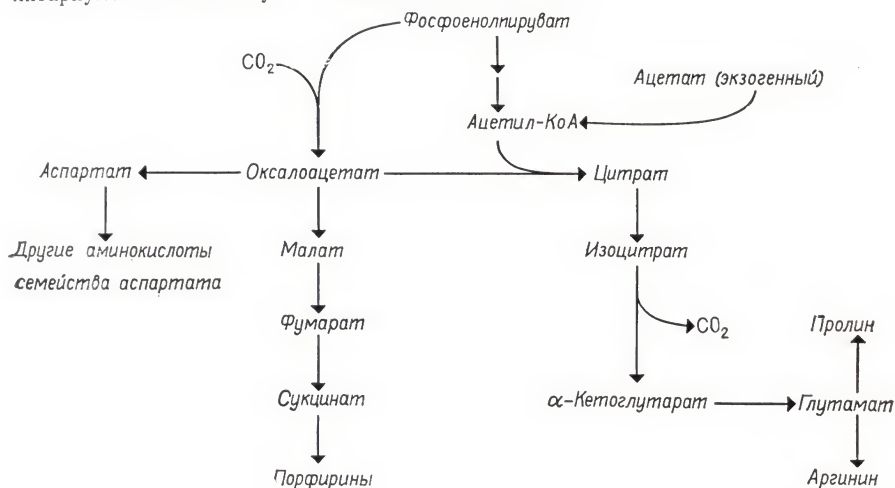
ляющими серу и нитрифицирующими бактериями, показали, что такая гипотеза несостоятельна. При добавлении меченых по ^{14}C органических субстратов к культурам облигатных автотрофов, растущих за счет использования неорганического источника энергии, наблюдается включение радиоактивности в материал клеток. В отсутствие неорганического окисляемого субстрата такое включение прекращается. Ассимиляция ряда аминокислот и уксусной кислоты происходит с относительно высокой скоростью. Однако в составе выделяемого CO_2 ^{14}C -атомы углерода, происходящие из ацетата, либо вообще не обнаруживаются, либо обнаруживаются в исключительно малых количествах; следовательно, метаболизм этого соединения у облигатных автотрофов носит строго ассимилятивный характер. Более того, из ацетата происходит лишь незначительная часть новосинтезированных углеродных соединений клетки (от 10 до 15%). Аналогичные эксперименты с факультативными автотрофами (например, с *Thiobacillus intermedius*) показали, что углерод ацетата вносит в новосинтезированные углеродные соединения клетки гораздо больший вклад. Согласно биохимическим данным, неспособность многих облигатных автотрофов более эффективно использовать ацетат связана с тем, что у них не функционирует цикл трикарбоновых кислот. У этих организмов отсутствует ключевой фермент цикла α -кетоглутаратдегидрогеназы и содержится необычно мало как сукцинатдегидрогеназы, так и малатдегидрогеназы. В отсутствие α -кетоглутаратдегидрогеназы другие ферменты этого цикла не могут проводить окисление ацетил-КоА, и цикл разбивается на два отдельных метаболических пути, которые выполняют чисто биосинтетические функции (рис. 18.10). Ветвь дикарбоновых кислот (которую питает карбоксилирование фосфоенолпировиноградной кислоты) «работает» в направлении, обратном обычному, в результате чего образуются предшественники аминокислот семейства аспартата и порфирины. Цитратная ветвь (которую питают щавелевоуксусная кислота и ацетил-КоА) «работает» в своем обычном направлении, образуя α -кетоглутаровую кислоту, предшественник аминокислот семейства глутамата. Относительно небольшой вклад экзогенной уксусной кислоты в новосинтезируемые углеродные соединения клетки отражает, таким образом, тот факт, что она поступает только в те пути биосинтеза, для которых специфическим предшественником является ацетил-КоА. Кроме пути, показанного на рис. 18.10, к ним относятся также пути синтеза липидов и синтеза лейцина (подробнее см. гл. 7).

У организмов со строго дыхательным метаболизмом отсутствие α -кетоглутаратдегидрогеназы предотвращает диссимиляцию большинства органических веществ. Исключение составляют глюкоза и некоторые другие сахара; они могут быть окислены до CO_2 через пентозофосфатный путь. Такой

Рис. 18.10. Роль реакций, обычно ассоциированных с циклом трикарбоновых кислот, для процессов биосинтеза у организмов, не способных превращать α -кетоглутаровую кислоту в янтарную. В этом слу-

чае углерод из экзогенной уксусной кислоты может включиться в аминокислоты семейства глутаминовой кислоты через лимонную и α -кетоглутаровую кислоты, но не может включиться в аминокислоты семей-

ства аспарагиновой кислоты через янтарную и щавелевоуксусную кислоты, как это происходит у организмов с нормально функционирующим циклом трикарбоновых кислот.



способ диссимиляции сахара встречается у многих цианобактерий, у которых также не функционирует цикл трикарбоновых кислот (гл. 17).

Вторая возможная причина неспособности хемоавтотрофов получать энергию в результате окисления органических соединений может быть связана с особенностями их цепей переноса электронов. При окислении хемоавтотрофами неорганических субстратов (за исключением водорода) электроны поступают в цепь переноса на уровне цитохромов. В результате синтез восстановленных пиридиннуклеотидов происходит при обратном переносе электронов, сопряженном с затратами энергии. Возможно, каким-то образом предотвращается поступление электронов в дыхательную цепь через НАД·Н (основное место, где в цепь поступают электроны от органических субстратов), и если учесть, как много энергии затрачивается на синтез НАД·Н, становится совершенно очевидной адаптивная ценность механизма, препятствующая его повторному окислению через цепь переноса. Если считать, что облигатная автотрофность обусловлена таким механизмом, это может также объяснить, почему отсутствуют облигатно автотрофные водородные бактерии, поскольку H_2 представляет собой единственный неорганический субстрат, который окисляется через НАД·Н. К сожалению, данные как

за, так и против такой гипотезы отсутствуют; это обусловлено в первую очередь тем, что структура и механизм действия цепей переноса электронов у хемоавтотрофов все еще мало изучены.

ПОДАВЛЕНИЕ РОСТА ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

На основании своих исследований физиологин нитрифицирующих бактерий Виноградский сделал вывод, что эти бактерии не только не могут использовать органические соединения, но что эти соединения для них даже токсичны. Более поздние работы не подтвердили этого вывода: вообще говоря, органические соединения не подавляют рост хемоавтотрофов, если они добавляются в среду в таких концентрациях, к которым хемоавтотрофы толерантны. Однако описано несколько случаев *специфического* подавления роста органическими соединениями, в частности аминокислотами. Рост некоторых тиобацилл останавливается в присутствии низких концентраций отдельных аминокислот (от 1 до 10 мМ), причем специфичность ингибирования разными аминокислотами несколько варьирует от штамма к штамму. При тщательном анализе каждого такого случая оказалось, что подавление роста можно объяснить ингибированием какого-нибудь фермента, осуществляющего один из ранних этапов пути биосинтеза конечным продуктом. Рост восстанавливался при добавлении других конечных продуктов нарушенного пути. Например, подавление роста фенилаланином можно было снять, добавив тирозин и триптофан. Точно такие же случаи специфического подавления были обнаружены и при изучении хемогетеротрофных бактерий. Следовательно, это свойство не является уникальным, специфичным лишь для хемоавтотрофов.

МЕТИЛОТРОФЫ

Отличительным свойством этих организмов является их способность получать и энергию и углерод в ходе метаболизма одноуглеродных соединений, содержащих метильную группу (CH_3-), а также соединений, содержащих две или более метильные группы, не связанные непосредственно друг с другом (например, диметилового эфира $\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_3$). В природе из соединений этого класса наиболее широко распространен газ метан (CH_4), который встречается в залежах угля и нефти и в больших количествах синтезируется метанобразующими бактериями в анаэробных условиях (гл. 24). При распаде пектинов и других природных органических веществ, содержащих метиловые эфиры, образуется метанол. В тканях растений и животных содержатся метиламины [CH_3NH_2 , $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, $(\text{CH}_3)_3\text{N}$] и их окислы.

Диссимиляция этих сильно восстановленных соединений, содержащих метильную группу, почти всегда сопряжена с дыханием и осуществляется строгими аэробами. Единственное исключение из этого правила составляет использование метанола метанобразующими и пурпурными бактериями в анаэробных условиях. Насколько известно, окислять метан способны только прокариоты. Метиловый спирт, однако, может служить субстратом и для некоторых дрожжей.

Прокариотические метилотрофы подразделяются на две основные физиологические подгруппы — на облигатных и факультативных метилотрофов (табл. 18.8). Облигатные ме-

ТАБЛИЦА 18.8

СУБСТРАТЫ, ПОДДЕРЖИВАЮЩИЕ РОСТ ОБЛИГАТНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ (НА ПРИМЕРЕ ДВУХ ХАРАКТЕРНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ КАЖДОЙ ГРУППЫ)

		Облигатный (<i>Methylobionas</i>)	Факультатив- ный (<i>Hypho- microbium</i>)
C ₁ -соединения	метан (CH ₄)	+	—
	диметиловый эфир (CH ₃ —O—CH ₃)	+	—
	метиловый спирт (CH ₃ OH)	+	+
	муравьиная кислота (HCOO ⁻)	—	+
C ₂ -соединения	этиловый спирт	—	+
	уксусная кислота	—	+
C ₄ -соединение	β-оксимасляная кислота	—	+

тилотрофы способны расти на метане; из других субстратов их рост могут поддерживать лишь диметиловый эфир и метанол. Факультативные метилотрофы способны расти на метаноле и (или) метиламинах, но не на метане. Часто они растут также на муравьиной кислоте и на небольшом числе простых C₂- и C₄-соединений. Однако, как это видно на приведенном в табл. 18.8 примере, круг таких соединений всегда невелик.

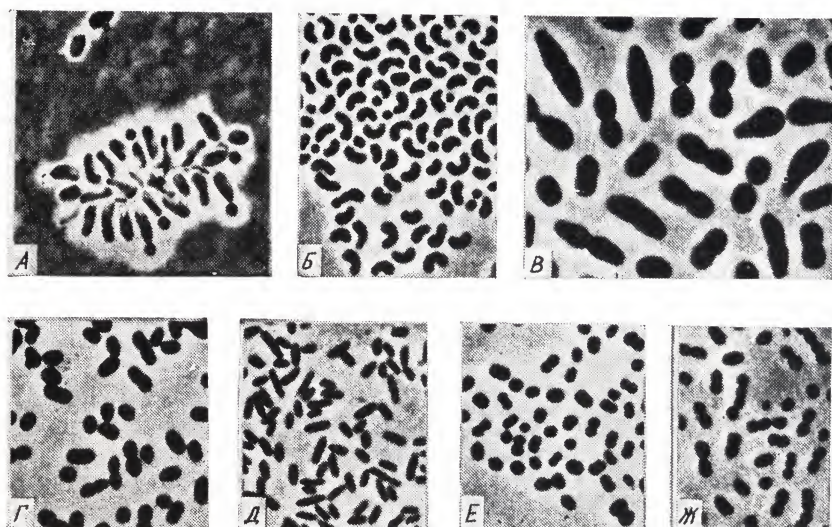
ОБЛИГАТНЫЕ МЕТИЛОТРОФЫ

Наши знания об этой группе накапливались очень медленно. Первая бактерия *Methylobionas methanica*, граммотрицательная палочка с полярными жгутиками, была описана почти 70 лет назад и в течение нескольких десятилетий оставалась единственной известной бактерией, окисляющей метан. Развитие и усовершенствование методов накопления и очистки окисляющих метан бактерий в последнее время привело к открытию большого числа новых организмов, в принципе сходных по пищевым свойствам, но удивительно разнообра-

Рис. 18.11. Микрофотографии некоторых облигатных метилотрофов; фазовый контраст (×1600). А. *Methylosinus*.

В. *Methylocystis*. В. *Methylobacter*. Г и Д. Два вида *Methylomonas*. Е и Ж. Два вида *Methylococcus*. [Whittenbury R.,

Phillips K. C., Wilkinson J. F., Enrichment, Isolation and some properties of methane-utilizing bacteria, J. Gen Microbiol., 61, 205 (1970).]



ных по структуре (рис. 18.11). Электронные микрофотографии тонких срезов (рис. 18.12) показывают, что все эти бактерии обладают сложными системами внутриклеточных мембран. Такие мембранные внедрения бывают двух типов: в виде стопки тонких дисков (мембраны типа I) и парные мембраны, обычно идущие по периферии цитоплазмы парал-

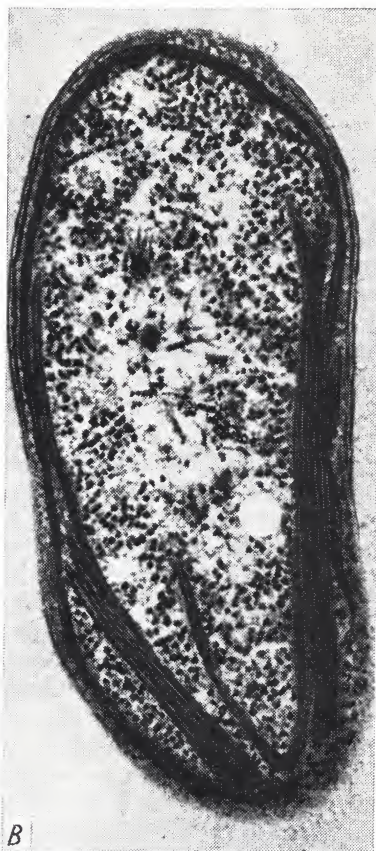
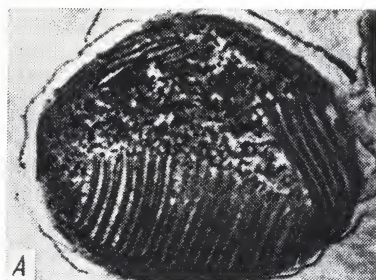
ТАБЛИЦА 18.9
ПОДГРУППЫ ОБЛИГАТНЫХ МЕТИЛОТРОФОВ

Форма клеток	Тип мембраны	Подгруппа
Палочки с полярно расположенными жгутиками; часто имеют грушевидную форму; нередко формируют скопления в виде розеток; образуют экзоспоры	II	<i>Methylosinus</i>
Неподвижные изогнутые палочки, образующие розетки; экзоспор нет	II	<i>Methylocystis</i>
Палочки с полярно расположенными жгутиками	I	<i>Methylomonas</i>
Палочки с полярно расположенными жгутиками и кокки; образуют цисты	I	<i>Methylobacter</i>
Неподвижные кокки	I	<i>Methylococcus</i>

Рис. 18.12. Электронные микрофотографии тонких срезов клеток трех облигатных метилотрофов. Видны мембранные системы двух типов, характерные для этих ор-

ганизмов. *A. Methylococcus*; мембранная система типа I ($\times 45\,900$). *Б. Methylomonas*; мембранная система типа I ($\times 22\,900$). *В. Methylosinus*; мембранная система

типа II ($\times 45\,900$). [Davies S. L., Whittenbury R., Fine structure of methane and other hydrocarbon-utilizing bacteria, J. Gen. Microbiol., 61, 227 (1970).]



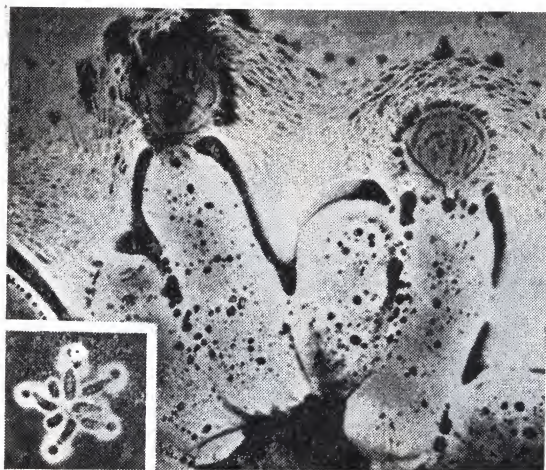


Рис. 18.13. Отпочковывание экзоспор от одного из полюсов клеток *Methylosinus*. Электронная микрофотография препарата целых клеток; негативный контраст ($\times 12\,000$). Видно, как образуется морщинистая поверхность экзоспор и отходящие от нее тонкие нити. На вставке — микрофотография таких же образующих экзоспоры негативно контрастированных тушью клеток, полученная в фазово-контрастном микроскопе ($\times 1400$). [Whittenbury R., Davies S. L., Davey S. L., Exospores and cysts formed by methane-utilizing bacteria, J. Gen. Microbiol., 61, 219 (1970).]

тельно цитоплазматической мембране (мембраны типа II). По топологии и сложному строению эти мембранные системы похожи на внутриклеточные мембраны некоторых нитрифицирующих бактерий. Исходя из структурных особенностей клеток, все облигатные метилотрофы можно разделить на пять групп (табл. 18.9). Некоторые из них образуют устойчивые к высушиванию покоящиеся клетки. По своей структуре такие клетки бывают двух типов: цисты, похожие на цисты *Azotobacter*, и так называемые экзоспоры, представляющие собой маленькие сферические клетки, отпочковывающиеся от одного из полюсов родительской клетки (рис. 18.13).

Наилучшим субстратом для данных бактерий является метан. Метиловый спирт для многих штаммов токсичен, и потому его следует вводить в среду в очень низких концентрациях. Скорость роста бактерий невелика даже при оптимальных условиях (время генерации составляет 4—6 ч). Облигатные метилотрофы могут окислять лишь немногие из тех органических субстратов, которые неспособны поддерживать их рост. К таким соединениям относятся муравьиная кислота, которую они окисляют до CO_2 , этилен и этиловый спирт, окисляемые до ацетальдегида. В качестве источников азота эти бактерии могут использовать как нитрат, так и аммиак. Однако аммиак, являясь ингибитором окисления метана, снижает скорость роста бактерий, если его концентрация превышает 0,05%. В содержащих аммиак средах образуются следовые количества нитрата. Таким образом,

окисляющие метан бактерии оказываются мини-нитрификаторами, хотя данные о том, что они могут получать энергию при таком незначительном в количественном отношении окислении аммония, отсутствуют.

ФАКУЛЬТАТИВНЫЕ МЕТИЛОТРОФЫ

Хотя облигатные метилотрофы и могут расти за счет использования метанола, накопительные культуры при потреблении этого субстрата неизменно обогащаются организмами другого типа, так называемыми *факультативными метилотрофами*. Из аэробных накопительных культур с метиловым спиртом или с метиламинами были выделены грамотрицательные палочки с полярно расположенными жгутиками, ни одна из форм которых подробно не описана. Лучше всего из факультативных метилотрофов изучена почкующаяся бактерия *Nuphromicrobium*. Она является мощным денитрификатором, и ее можно специфически накопить, проводя инкубацию в анаэробных условиях в среде, содержащей метиловый спирт и нитрат.

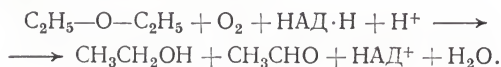
МЕТАБОЛИЗМ МЕТИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Химический путь полного окисления метана и метилового спирта очень прост и выглядит следующим образом:



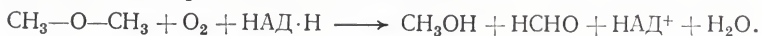
Однако не все ферменты, которые в нем участвуют, идентифицированы. Опыты с применением $^{18}\text{O}_2$ показали, что атом кислорода в метиловом спирте, первом промежуточном продукте окисления метана, ведет свое происхождение от O_2 , а не от воды. Следовательно, первый этап в превращении метана (как и аммония) состоит в окислении путем оксигенации¹.

Возможно, метиловый спирт является непосредственным продуктом такой реакции. Однако недавно полученные данные о том, что субстратом для всех окисляющих метан бактерий может служить метиловый эфир ($\text{CH}_3\text{—O—CH}_3$), означают, что, возможно, он является первичным продуктом окисления метана. Некоторые грамположительные бактерии используют для своего роста в качестве субстрата этиловый эфир ($\text{C}_2\text{H}_5\text{—O—C}_2\text{H}_5$). Это соединение расщепляется при окислении путем оксигенации, в результате чего образуются этиловый спирт и ацетальдегид:



¹ В настоящее время выделен фермент, участвующий в окислении метана до CH_3OH , — монооксигеназа. Такого же типа фермент принимает участие в окислении NH_4^+ . — *Прим. ред.*

Аналогичное окисление диметилового эфира метановыми бактериями может, следовательно, приводить к образованию метилового спирта и формальдегида, хотя существование приведенной ниже реакции не доказано.



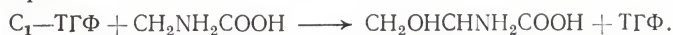
В отличие от окисления первичных спиртов, которое осуществляется пиридин-зависимыми дегидрогеназами, окисление метилового спирта идет с участием фермента, обладающего необычными свойствами: для его работы необходимы ионы аммония, а в качестве простетической группы он, по-видимому, содержит птеридин. Акцепторами электронов могут служить синтетические красители; пиридиннуклеотиды эта дегидрогеназа восстанавливать не может. Имеются данные, позволяющие предположить, что метанолдегидрогеназа катализирует также окисление формальдегида с образованием муравьиной кислоты, хотя у метилотрофов обнаружены и НАД-зависимые формальдегиддегидрогеназы. Окисление муравьиной кислоты катализируется НАД-зависимой дегидрогеназой.

АССИМИЛЯЦИЯ МЕТИЛОТРОФАМИ УГЛЕРОДА

Метилотрофы способны образовывать весь углерод клетки из C_1 -соединений, т. е. как из органического субстрата, так и из CO_2 . Однако опыты с использованием меченых соединений показали, что основная масса углерода клетки происходит из окисляемого субстрата, а не из CO_2 . На самом деле источником углерода клетки является промежуточное соединение формальдегид, и у большинства метилотрофов обнаружены два разных циклических пути превращения формальдегида в материал клетки.

Один из них, *рибулозомонофосфатный путь*, во многом аналогичен пути Кальвина при ассимиляции CO_2 . Ключевыми реакциями этого пути является присоединение формальдегида к рибулозо-5-фосфату с образованием фосфорилированного сахара (D-арабино-3-гексулозо-6-фосфат), который затем превращается в фруктозо-6-фосфат. Упрощенные схемы рибулозомонофосфатного цикла и цикла Кальвина представлены на рис. 18.14 и 18.15. Основные различия между этими циклами суммированы в табл. 18.10.

Сериновый путь (рис. 18.16) включает цикл из совершенно иных реакций. Получившийся из формальдегида C_1 -фрагмент переносится после его присоединения к тетрагидрофолиевой кислоте (ТГФ) на глицин, в результате чего образуется серин:



112 Через цепь последовательных реакций серин превращается в фосфоглицериновую кислоту, часть которой превраща-

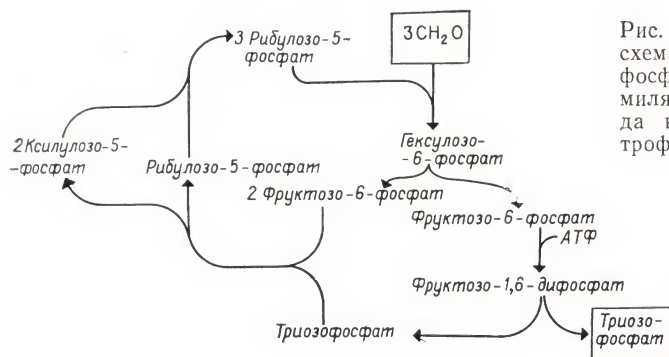


Рис. 18.14. Упрощенная схема рибулозомонофосфатного цикла ассимиляции формальдегида некоторыми метилотрофами.

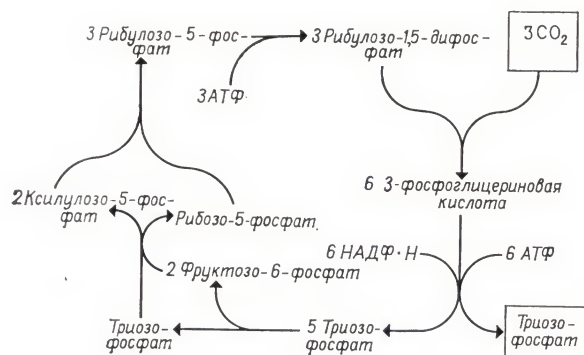


Рис. 18.15. Упрощенная схема рибулозодифосфатного цикла (цикла Кальвина), показывающая его сходство с рибулозомонофосфатным циклом.

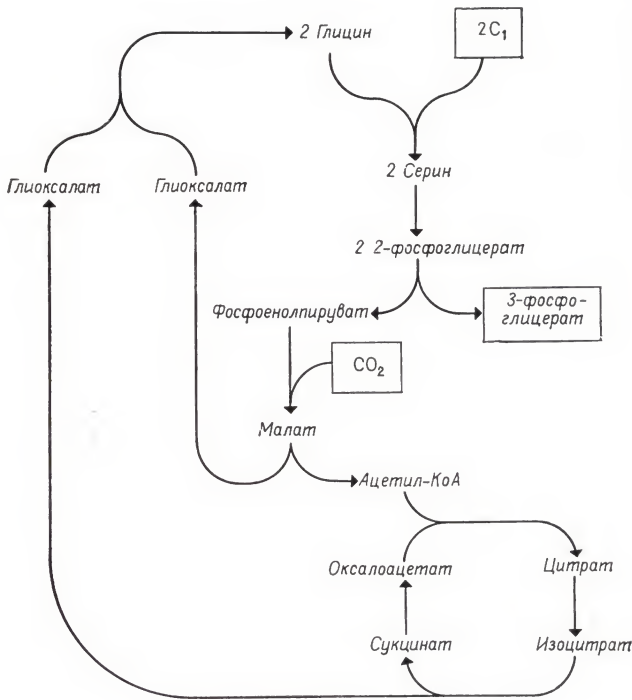
ется в триозофосфат и затем ассимилируется, а часть используется для регенерации глицина, первичного акцептора C_1 . Цепь реакций регенерации глицина довольно сложна. Она включает превращение фосфоглицериновой кислоты через фосфоенолпировиноградную кислоту в яблочную; этот процесс сопровождается фиксацией CO_2 . Яблочная кислота рас-

ТАБЛИЦА 18.10

ОСНОВНЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ РИБУЛОЗОМОНОФОСФАТНЫМ ЦИКЛОМ ФИКСАЦИИ ФОРМАЛЬДЕГИДА И ЦИКЛОМ КАЛЬВИНА ФИКСАЦИИ CO_2

	Рибулозодифосфатный цикл (цикл Кальвина)	Рибулозомонофосфатный цикл
Акцептор C_1	Рибулозо-1,5-дифосфат	Рибулозо-5-фосфат
Продукт этапа фиксации	C_3 -соединение (фосфоглицериновая кислота)	C_6 -соединение (гексулозо-6-фосфат)
Восстановительный этап для регенерации сахарофосфатов	Восстановление фосфоглицериновой кислоты до триозофосфата	Не требуется

Рис. 18.16. Сопряженный с глиоксилатным циклом сериновый путь, используемый некоторыми метилотрофами для ассимиляции формальдегида.



щепляется на глиоксиловую кислоту и ацетил-КоА. Последний, пройдя через глиоксилатный цикл, приводит к образованию второй молекулы глиоксиловой кислоты.

Исследовано распределение этих двух циклических путей у метилотрофов. У факультативных метилотрофов чаще встречается сериновый путь. Среди облигатных метилотрофов сериновый путь функционирует только у тех организмов, которые обладают мембранной системой типа II (*Methylosinus* — *Methylocystis*), а пентозофосфатный путь — у организмов с мембранной системой типа I (*Methylomonas* — *Methylobacter* — *Methylococcus*) (табл. 18.11).

Неспособность облигатных метилотрофов расти за счет муравьиной кислоты (хотя она и является конечным промежуточным соединением при окислении метана) объясняется, по-видимому, особенностями механизмов ассимиляции углерода у этих организмов. Если муравьиная кислота не может быть восстановлена до формальдегида, то она не может быть источником восстановленного углерода и ассимиляция углерода обязательно должна происходить в виде CO_2 . Некоторые факультативные метилотрофы способны использовать муравьиную кислоту в качестве субстрата и, как показано для одного из представителей данной группы, при этом углерод ассимилируется через цикл Кальвина. Следовательно,

ТАБЛИЦА 18.11

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСНОВНЫХ ПУТЕЙ ПРОМЕЖУТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА У МЕТИЛОТРОФОВ

	Облигатные метилотрофы		Факультативные метилотрофы
	мембранная система типа I	мембранная система типа II	
Рибулозодифосфатный цикл (цикл Кальвина)	—	—	+ ¹ или —
Рибулозомонофосфатный цикл	+	—	+ или —
Серинный путь, глиоксилатный цикл	—	+	+
Цикл трикарбоновых кислот	—	+	+

¹ Функционирует у некоторых бактерий, использующих метанол или муравьиную кислоту, при росте на этих субстратах.

необходимой предпосылкой для роста на муравьиной кислоте является способность синтезировать два ключевых фермента данного цикла — фосфорibuлокиназу и рибулозодифосфат-карбоксилазу.

НАЛИЧИЕ И РОЛЬ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ У МЕТИЛОТРОФОВ

Все факультативные метилотрофы обладают глиоксилатным циклом¹, поскольку он играет ключевую роль в ассимиляции углерода из C₁-субстратов. Эти организмы могут расти и за счет субстратов, содержащих более одного атома углерода (например, за счет уксусной кислоты). Это означает, что они обладают также и полным набором ферментов, которые необходимы для функционирования цикла трикарбоновых кислот, что и было подтверждено в случае *Hyphomicrobium*.

Среди облигатных метилотрофов имеется любопытная дихотомия. У тех организмов, которые ассимилируют формальдегид через пентозофосфатный путь, отсутствует α-кетоглутаратдегидрогеназа, и поэтому цикл трикарбоновых кислот не работает. Облигатные метилотрофы, ассимилирующие формальдегид через сериновый путь, обладают этим ключевым ферментом.

Таким образом, по составу ферментов облигатные метилотрофы четко разделяются на две группы. Те из них, которые имеют мембранную систему типа II, по своему ферментативному аппарату очень похожи на факультативные метилотрофы. Те же, которые имеют мембранную систему типа I,

115 ¹ У некоторых метилотрофов глиоксилатный цикл не действует из-за отсутствия изоцитратлиазы. — Прим. ред.

обладают набором ферментов, который аналогичен (но не идентичен) набору ферментов многих облигатных хемоавтотрофов.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ХЕМОАВТОТРОФОВ И МЕТИЛОТРОФОВ

Поскольку пищевые потребности хемоавтотрофов и метилотрофов весьма просты, их когда-то считали «примитивными» организмами, относящимися, возможно, к самым ранним формам жизни на Земле. Позднее представление об их месте в эволюции живых организмов изменилось, и обусловлено это было двумя причинами. Во-первых, биохимический аппарат данных бактерий (и даже тонкая структура их клеток) оказался по крайней мере столь же сложным, как и у большинства хемогетеротрофных бактерий. Во-вторых, появились убедительные данные, что самые первые живые организмы на Земле возникли в анаэробных условиях, когда океан в изобилии содержал образованные ранее органические вещества. Богатая кислородом биосфера возникла гораздо позднее (по-видимому, около 2 млрд. лет назад). Этот важнейший геохимический переворот можно удовлетворительно объяснить только в том случае, если считать его результатом развития оксигенного фотосинтеза. При таком характере эволюции аэробные хемоавтотрофы и метилотрофы могли появиться на Земле только после того, как развился оксигенный фотосинтез. Можно предположить поэтому, что хемоавтотрофы и метилотрофы возникли из прокариотических предков, которые осуществляли либо оксигенный, либо аноксигенный фотосинтез, но утратили аппарат фотосинтеза, а их цепи переноса электронов, функционировавшие при фотосинтезе, стали выполнять новую функцию. Некоторые представители этих двух основных групп прокариот, фотосинтезирующей и нефотосинтезирующей, обладают весьма интересными свойствами. Сюда относятся наличие нескольких сложных, характерных для них типов систем внутренних мембран; отсутствие функционирующего цикла трикарбоновых кислот; наличие цикла Кальвина или его аналога, пентозофосфатного цикла; локализация в карбоксисомах ключевого фермента цикла Кальвина (рибулозодифосфаткарбоксилазы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Обзоры и оригинальные работы

Aleem M. I. H. (1970), Oxidation of Inorganic Nitrogen Compounds, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 67.

Kelly D. P. (1970), Autotrophy: Concepts of Lithotrophic Bacteria and Their Organic Metabolism, *Ann. Rev. Microbiol.*, **25**, 177.

Peck H. D. (1968), Energy-Coupling Mechanisms in Chemolithotrophic Bacteria, *Ann. Rev. Microbiol.*, **22**, 489.

- Quayle J. R. (1972), The Metabolism of One-Carbon Compounds by Microorganisms, *Adv. Microb. Physiol.*, **7**, 119.
- Rittenberg S. C. (1972), The Obligate Autotroph — the Demise of a Concept, *Antonie v. Leeuwenhoek*, **38**, 457.
- Watson S. W. (1971), Taxonomic Considerations of the Family *Nitrobacteriaceae* Buchanan, *Int. J. Systematic Bacteriol.*, **21**, 254.
- Whittenbury R., Phillips K. C., Wilkinson J. F. (1970), Enrichment, Isolation and Some Properties of Methane-Utilizing Bacteria, *J. Gen. Microbiol.*, **61**, 205.

19 ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ: АЭРОБНЫЕ ХЕМОГЕТЕРОТРОФЫ

В гл. 17 были рассмотрены граммотрицательные фотосинтезирующие бактерии, в гл. 18 — граммотрицательные бактерии, синтезирующие АТФ за счет окисления неорганических соединений или восстановленных C_1 -соединений; в гл. 19—21 мы опишем основные группы граммотрицательных бактерий-хемогетеротрофов, использующих в качестве источников энергии и углерода органические соединения с более чем одним атомом углерода. Усвоение этих органических субстратов происходит за счет либо дыхания, либо брожения. В данной главе речь пойдет о бактериях с чисто дыхательным метаболизмом, передвигающихся (если это подвижные формы) при помощи жгутиков. Большинство скользящих граммотрицательных бактерий также обладают чисто дыхательным метаболизмом; они будут описаны отдельно в гл. 21.

Отличительные признаки основных групп бактерий, рассматриваемых в данной главе, представлены в табл. 19.1.

Таксономическое разделение основано в первую очередь на структурных свойствах — форме клеток и характере распределения жгутиков, полярном или перитрихальном. Однако некоторые группы (и многие входящие в них роды) различаются по дополнительным особенностям физиологического или экологического характера.

подавляющему большинству бактерий, принадлежащих к группам, перечисленным в табл. 19.1, в качестве конечного акцептора электронов необходим O_2 ; поэтому они представляют собой строгих аэробов, для которых молекулярный кислород является необходимым питательным веществом. Единственное исключение из этого правила — денитрифицирующие бактерии; конечным акцептором электронов у этих организмов может быть не O_2 , а нитрат, поэтому они способны расти и в анаэробных условиях. Анаэробный рост за счет денитрификации легко отличить от роста за счет брожения по его абсолютной зависимости от наличия нитрата в количестве, достаточном для обеспечения дыхания. Денитрификация приводит к обильному образованию газа, так как основным конечным продуктом восстановления нитрата является N_2 .

Дыхательные транспортные цепи граммотрицательных хемогетеротрофов весьма разнообразны по составу, особенно в отношении цитохромов. Различия в природе цитохромов в транспортной цепи выявляет проба на оксидазу, часто применяемая для идентификации этих организмов. Оксидазоположительные аэробы при смешивании их с раствором *n*-фе-

ТАБЛИЦА 19.1

ОСНОВНЫЕ ГРУППЫ АЭРОБНЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ХЕМОГЕТЕРОТРОФОВ

Форма клеток	Расположение жгутиков	ГЦ-содержание ДНК, %	Другие характерные признаки	Группа	Род
Палочки	Полярное	58—70	Отсутствуют	Аэробные псевдомонады	<i>Pseudomonas</i> <i>Xanthomonas</i>
Палочки	Перитрихальное или субполярное	58—70	Некоторые виды образуют клубеньки и галлы на растениях		<i>Alcaligenes</i> <i>Rhizobium</i> <i>Agrobacterium</i>
Палочки	Полярное или субполярное	59—65	Наличие простек, особый цикл деления	Группа каулобактера	<i>Caulobacter</i> <i>Asticcacaulis</i>
Палочки	Перитрихальное, редко полярное	57—70	Свободноживущие, аэробные азотфиксирующие формы	Группа азотобактера	<i>Azotobacter</i> <i>Azomonas</i> <i>Beijerinckia</i>
Палочки	Полярное или перитрихальное	55—64	Неполное окисление органических субстратов	Уксуснокислые бактерии	<i>Gluconobacter</i> <i>Acetobacter</i>
Палочки	Полярное или субполярное	69—70	Образуют чехлы	Группа сферотилуса	<i>Sphaerotilus</i> <i>Leptothrix</i>
Спиралевидная	Полярное	30—65	Отсутствуют	Спириллы	<i>Spirillum</i> <i>Aquaspirillum</i> <i>Oceanospirillum</i> <i>Campylobacter</i> <i>Bdellovibrio</i>
Кокки или короткие палочки	Жгутики отсутствуют	40—52	»	Группа моракселлы-нейссерии	<i>Neisseria</i> <i>Branhamella</i> <i>Moraxella</i> <i>Acinetobacter</i>

нилендиамина или какого-нибудь аналогичного окисляемого амина немедленно образуют окрашенные продукты. Такая реакция связана с наличием в транспортной цепи цитохрома *c*-типа. Транспортная цепь оксидазоотрицательных аэробов не содержит цитохрома *c* и не дает этой реакции.

Основным или даже единственным окисленным продуктом дыхательного катаболизма большинства неорганических субстратов (независимо от того, связан катаболизм с восстановлением O_2 или нитрата) является CO_2 , а конечным этапом окисления — цикл трикарбоновых кислот. Однако окончательное окисление не сможет произойти до тех пор, пока первичный субстрат не превратится в ацетил-КоА или другой ме-

таболит, являющийся промежуточным соединением в цикле трикарбоновых кислот. Способность использовать разнообразный набор органических соединений в качестве единственных источников углерода и энергии, характерная для многих аэробных бактерий, рассматриваемых в этой главе, обусловлена поэтому наличием у них большого числа особых метаболических путей окисления субстратов, причем все эти пути сходятся к циклу трикарбоновых кислот. Некоторые из них имеются у многих групп бактерий, перечисленных в табл. 19.1. Например, дыхательная диссимиляция сахаров почти всегда происходит у этих групп по пути Энтнера — Дудорова (см. рис. 6.7), что приводит к образованию 2 молей ацетил-КоА на 1 моль окисленной гексозы. Как видно из табл. 19.2, путь Энтнера — Дудорова характерен для грам-

ТАБЛИЦА 19.2

ГРУППЫ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, У КОТОРЫХ КАТАБОЛИЗМ ГЕКСОЗ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ ПО ПУТИ ЭНТНЕРА — ДУДОРОВА

А. Аэробы с чисто дыхательным метаболизмом

Аэробные псевдомонады

Группа каулобактера

Группа азотобактера

Agrobacterium

Rhizobium

Spirillum

Б. Факультативные анаэробы, способные к сбраживанию сахаров

Zymomonas

отрицательных бактерий с чисто дыхательным метаболизмом и редко используется при сбраживании гексоз.

Другим основным путем дыхательного превращения первичных субстратов в промежуточные соединения цикла трикарбоновых кислот является путь β -кетoadипиновой кислоты, встречающийся у многих организмов из групп грамотрицательных хемогетеротрофов (табл. 19.3). Две его сходящиеся

ТАБЛИЦА 19.3

ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ, У КОТОРЫХ ДИССИМИЛЯЦИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРОИСХОДИТ ЧЕРЕЗ ОБРАЗОВАНИЕ β -КЕТОАДИПИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Аэробные псевдомонады (род *Pseudomonas*)

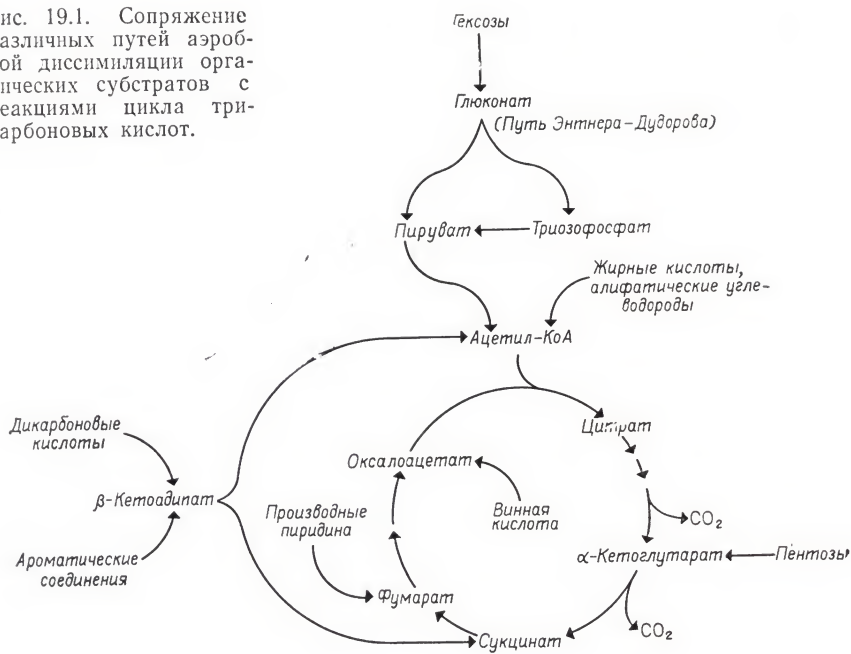
Alcaligenes

Azotobacter

Группа моракселлы (род *Acinetobacter*)

ветви служат в основном для диссимиляции ароматических соединений. В конечном итоге атомы углерода шестичленного кольца различных первичных субстратов участвуют в образовании ацетил-КоА и сукцината. Другой возможностью

Рис. 19.1. Сопряжение различных путей аэробной диссимилиации органических субстратов с реакциями цикла трикарбоновых кислот.



«вхождения» в цикл трикарбоновых кислот является превращение субстрата в фумаровую кислоту (образующуюся при окислении производных пиридина, например никотиновой кислоты) и в α -кетоглутаровую кислоту (образующуюся при окислении пентоз рядом грамотрицательных аэробов). Метаболическая связь некоторых из этих первичных путей с циклом трикарбоновых кислот схематически показана на рис. 19.1.

Большинство органических субстратов, диссимилируемых денитрифицирующими бактериями в аэробных условиях, окисляются данными организмами и в анаэробных условиях; при этом конечным акцептором электрона служит нитрат. Исключение составляют ароматические и некоторые другие субстраты (например, алифатические углеводороды), поскольку один или несколько ранних этапов расщепления осуществляется при участии оксигеназ, для которых обязательным косубстратом является молекулярный кислород; эти пути могут функционировать только в аэробных условиях.

Одним из наиболее замечательных свойств аэробных хемогетеротрофов в целом является их непритязательность в отношении питания. По-видимому, в качестве основного источника углерода и энергии могут использоваться почти все природные органические соединения, если не одним, то другим видом данных бактерий. Это очень легко показать в опыте с накопительной культурой. При засеве образцами почвы

или воды синтетической среды, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии практически любое органическое соединение, и аэробной инкубации популяция бактерий состоит главным образом из грамотрицательных хемогетеротрофов. Во многих естественных местообитаниях эти бактерии являются основными агентами, ответственным за аэробную минерализацию органического материала. У бактерий группы азотобактера есть еще одна важная роль в природе — это практически единственные хемогетеротрофы, способные в аэробных условиях фиксировать молекулярный азот.

Исключением из общего правила, согласно которому основной конечный продукт дыхательного катаболизма органических субстратов — это CO_2 , являются уксуснокислые бактерии. Данные организмы окисляют многие органические соединения с накоплением большого количества органических продуктов. Наиболее характерным примером такого частичного окисления субстрата является образование уксусной кислоты из этанола.

В группу грамотрицательных аэробных хемогетеротрофов входит значительное число бактерий, которые либо патогенны для растений или животных, либо тесно ассоциированы с ними. Некоторые из таких ассоциаций будут рассмотрены ниже.

АЭРОБНЫЕ ПСЕВДОМОНАДЫ

Среди многих групп грамотрицательных палочек со жгутиками (ГЦ-содержание ДНК этих организмов лежит в пределах 58—70%) наиболее подробно изучены бактерии, известные под названием *аэробных псевдомонад* (табл. 19.1). Следует отметить, что существующие в настоящее время границы этой группы несколько произвольны. Отличие от таких бактерий, как *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* и уксуснокислых бактерий, основано на признаках, таксономическое значение которых четко не установлено. Главным критерием отнесения грамотрицательных аэробных хемогетеротрофов именно к этой группе считается характер жгутикования — оно должно быть полярным (рис. 19.2). Однако некоторые палочки с полярно прикрепленными жгутиками не относят к этой группе (например, бактерии группы каулобактера, ряд уксуснокислых бактерий и отдельные члены группы азотобактера) на основании других характерных признаков.

В настоящее время среди аэробных псевдомонад различают примерно 30 видов. За исключением бактерий с желтым пигментом, патогенных для растений и относимых к роду *Xanthomonas*, эти виды относят к роду *Pseudomonas*. Опыты по гибридизации нуклеиновых кислот показали, что аэробные псевдомонады отличаются значительной внутренней гетерогенностью; их можно разделить на пять основных,

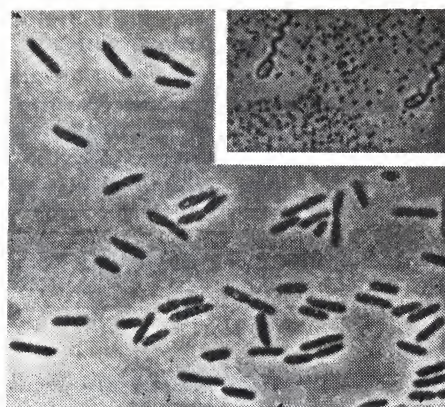


Рис. 19.2. Микрофотография клеток *Pseudomonas aeruginosa*, фазовый контраст (×1100). В правом верхнем углу — окрашенный препарат *Pseudomonas stutzeri*, демонстрирующий полярный монотрихальный тип жгутикования, характерный для многих видов *Pseudomonas* (×1290). (С любезного разрешения Н. Паллерони.)

изолированных друг от друга генетически гомологичных групп (гл. 14). Мы опишем здесь лишь некоторые виды — характерных представителей четырех из этих гомологичных групп: флуоресцирующих псевдомонад, группу псевдомаллен, группу ацидоворанса и группу ксантомонад (табл. 19.4).

ТАБЛИЦА 19.4
СВОЙСТВА ЧЕТЫРЕХ ГРУПП АЭРОБНЫХ ПСЕВДОМОНАД

	ГЦ-содержание ДНК, %	Поли-β-оксимасляная кислота в качестве запасного вещества	Пигмент		Потребность в факторах роста	Основные источники углерода и энергии		
			растворимый, флуоресци- рующий	внутриклеточ- ный желтый		глюкоза	L-треонин	морелин
Группа флуоресцирующих псевдомонад	60—67	—	+	—	—	+	—	—
Группа псевдомаллен	67—69	+	—	—	—	+	+	—
Группа ацидоворанса	61—69	+	—	—	—	—	—	+
Группа ксантомонад	64—69	—	—	+	+	+	—	—

Не всегда одинаково хорошо выраженной, но характерной особенностью флуоресцирующих псевдомонад (табл. 19.5) является образование желто-зеленого водорастворимого пигмента, который диффундирует в среду и флуоресцирует при освещении УФ-светом. Эти бактерии не нуждаются в факторах роста и не синтезируют поли-β-оксимасляную кислоту в качестве запасного клеточного вещества. Кроме желтых флуоресцирующих пигментов у бактерий *P. aeruginosa* присутствует голубой феназиновый пигмент пиоцианин (рис. 19.3).

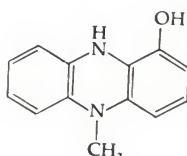
ТАБЛИЦА 19.5

РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ОСНОВНЫМИ ВИДАМИ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ ПСЕВДОМОНАД

	ГЦ-содержание ДНК, %	Число жгутиков на клетку	Образование пиоцинина	Способность к росту при 41 °С	Гидролиз желатина	Оксидазная реакция	Денитрификация
<i>P. aeruginosa</i>	67	1	+	+	+	+	+
<i>P. putida</i>	62	>1	—	—	—	+	—
<i>P. fluorescens</i>	60—63	>1	—	—	+	+	± ¹
<i>P. syringae</i>	58—60	>1	—	—	+	—	—

¹ Знак «±» означает, что данное свойство в пределах вида варьирует.

Этот вид, а также *P. fluorescens* и *P. putida* являются обычными представителями микрофлоры почвы и воды. Они очень непритязательны в отношении питания и способны использовать в качестве единственных источников углерода и энер-

Рис. 19.3. Структурная формула пиоцинина, голубого пигмента *Pseudomonas aeruginosa*.

гии 60—80 различных органических соединений. Являясь удобным биологическим объектом для выяснения метаболических путей диссимиляции различных классов органических веществ, данные виды тщательно исследовались биохимиками. Недавно, после открытия конъюгационной и трансдукционной систем переноса генетического материала внутри этой группы, они стали объектом генетических исследований. Показано, в частности, что генетические детерминанты, которые контролируют отдельные пути диссимиляции субстратов (например, путь диссимиляции камфоры), локализованы в плазмидах, передающихся от штамма к штамму (гл. 15).

P. aeruginosa, для которой температурный оптимум существенно выше, чем для *P. fluorescens* и *P. putida*, иногда патогенна для человека. Она принадлежит к категории условных патогенов, в норме не обитающих в животных-хозяевах, но инфицирующих индивидуумов с пониженной устойчивостью. Так, *P. aeruginosa* обычно вызывают инфекцию, нередко с летальным исходом, у лиц с тяжелыми ожогами или у раковых больных, получавших иммунодепрессанты.

К флуоресцирующим псевдомонадам относятся также бактерии, патогенные для растений. Среди них имеется много

разновидностей, различающихся по спектру хозяев, но всех их относят к одному виду *P. syringae*. Эти фитопатогенные бактерии являются истинными паразитами, которые легко отличить от свободноживущих почвенных и водных видов по физиологическим и биохимическим свойствам. Их способность использовать различные источники питания более ограничена, а скорость роста как на синтетических, так и на

ТАБЛИЦА 19.6

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ТРЕХ ОСНОВНЫХ ВИДОВ ГРУППЫ ПСЕВДОМАЛЛЕИ

	Число жгутиков	ГЦ-содержание ДНК, %	Денитрификация	Внеклеточный гидролиз		Источники углерода			
				крахмала	поли-β-оксимасляной кислоты	D-ксилоза	D-рибоза	эритрит	m-оксибензойная кислота
<i>P. pseudomallei</i>	>1	69	+	+	+	—	+	+	—
<i>P. mallei</i>	0	69	± ¹	±	±	+	—	—	—
<i>P. cepacia</i>	>1	67	—	—	—	+	+	—	+

¹ Знак «±» означает, что данный признак варьирует.

сложных средах существенно ниже. Они также являются единственными оксидазоотрицательными представителями группы флуоресцирующих псевдомонад.

Группа псевдомаллеи (табл. 19.6), как и группа флуоресцирующих псевдомонад, представлена организмами, способными использовать широкий круг питательных веществ и не нуждающимися в факторах роста. Хотя обычно бактерии этой группы пигментированы, они никогда не образуют желто-зеленого флуоресцирующего диффундирующего в окружающую среду пигмента. В качестве запасного вещества синтезируют поли-β-оксимасляную кислоту. Родоначальник этой группы, *P. pseudomallei*, был сначала идентифицирован как возбудитель мелиоидоза, тропического заболевания человека и других млекопитающих, характеризующегося, как правило, смертельным исходом. Даже в тропических районах, где мелиоидоз эндемичен, он является сравнительно редким заболеванием. Заражение обычно происходит при попадании в раны земли или ила. Подобно *P. aeruginosa*, *P. pseudomallei* факультативно патогенен; он является нормальным представителем тропической микрофлоры почвы и воды. Однако близкородственный вид, *P. mallei*, представляет собой истинного паразита, вызывающего у лошадей заболевание, известное под названием сап. *P. mallei* нежизнеспособна в природных условиях в отсутствие специфического животного-хозяи-

на. Это единственная аэробная псевдомонада, которая всегда неподвижна; она включена в данную группу на основании близкого генетического родства и фенотипического сходства с *P. pseudomallei*.

Группа псевдомаллеи включает также несколько видов, которые встречаются в почве и иногда патогенны для растений. Характерным представителем таких бактерий является *P. cerasia*, замечательная своей всеядностью: она может использовать в качестве источников углерода и энергии более 100 различных органических соединений (табл. 2.3).

ТАБЛИЦА 19.7

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ДВУХ ОСНОВНЫХ ВИДОВ ГРУППЫ АЦИДОВОРАНСА

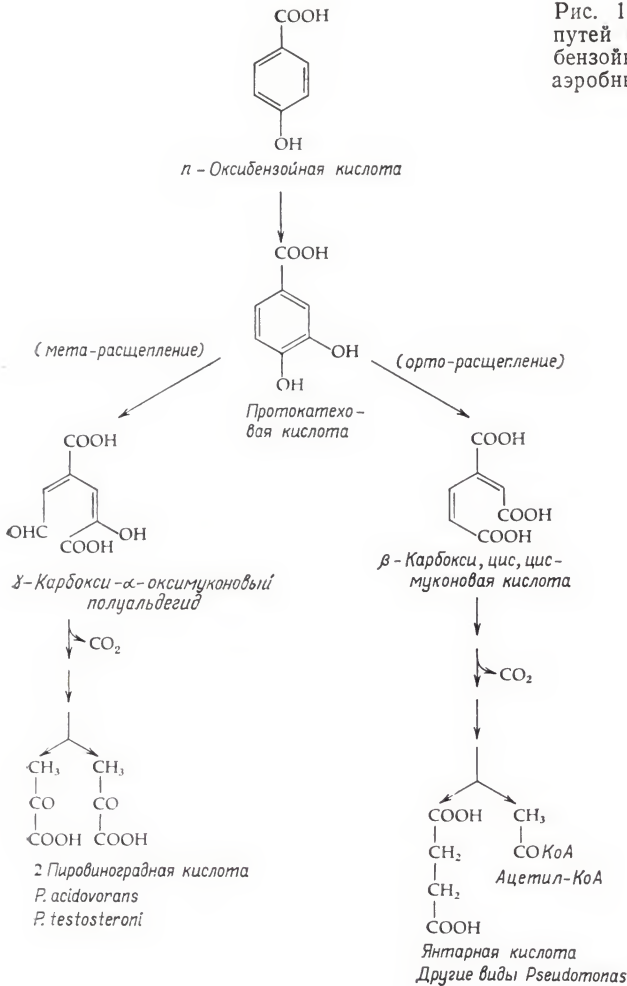
	ГЦ-содержание ДНК, %	Источник углерода			
		фруктоза	тестостерон	этанол	L-триптофан
<i>P. acidovorans</i>	69	+	—	+	+
<i>P. testosteroni</i>	62	—	+	—	—

Почвенные бактерии группы ацидоворанса, включающей в себя виды *P. acidovorans* и *P. testosteroni* (табл. 19.7), не пигментированы; они накапливают поли-β-оксисмалевую кислоту и не требуют факторов роста. Круг питательных веществ, используемых этими бактериями, весьма необычен. Многие органические субстраты, используемые группой флуоресцирующих псевдомонад и группой псевдомаллеи (глюкоза и другие альдозные сахара, полиаминны, такие, как путресцин и спермин, и некоторые аминокислоты, особенно аргинин и лизин), не способны поддерживать рост бактерий группы ацидоворанса. Но зато эти бактерии могут расти за счет ряда органических кислот и аминокислот, которые либо вообще не используются представителями других групп, либо используются очень редко. К таким соединениям относятся гликолевая и муконовая кислоты и норлейцин.

Другим интересным свойством бактерий группы ацидоворанса является наличие таких метаболических путей диссимилиации широко используемых субстратов, которые не свойственны другим аэробным псевдомонадам. Например, *n*-оксибензойная кислота расщепляется всеми аэробными псевдомонадами, использующими этот субстрат, через образование β-кетoadипиновой кислоты, а у бактерий группы ацидоворанса она диссимилируется по специальному пути так называемого *мета*-расщепления (рис. 19.4).

Некоторые патогенные для растений псевдомонады уже давно отнесены к отдельному роду *Xanthomonas*, характер-

Рис. 19.4. Разветвление путей окисления *p*-оксибензойной кислоты у аэробных псевдомонад.



ным признаком которого является образование желтых внутриклеточных пигментов. Опыты по определению степени гомологичности нуклеиновых кислот ксантомонад показали, что эти организмы образуют генетически изолированную подгруппу, которая находится в отдаленном родстве с другой аэробной псевдомонадой *Pseudomonas maltophilia*. В отличие от рассмотренных выше групп и ксантомонады, и *P. maltophilia* нуждаются в органических факторах роста, включая метионин и (для ксантомонад) некоторые витамины группы В.

Долгое время считалось, что желтые клеточные пигменты ксантомонад являются каротиноидами, но химические исследования показали, что эти пигменты имеют уникальное строение и представляют собой бромированные производные ари-

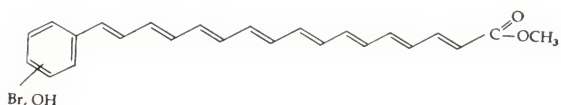


Рис. 19.5. Структурная формула одного из бромированных арилоктанов — группоспецифичных пигментов ксантомонад. Атом брома находится в кольце, но точное местоположение его не установлено.

локтанов, общая структурная формула которых показана на рис. 19.5. Пигменты такого типа не обнаружены ни у одного другого вида бактерий.

ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ РОДОВ *ALCALIGENES AGROBACTERIUM* И *RHIZOBIUM*

К грамотрицательным аэробным хемогетеротрофам палочковидной формы относится множество видов с неполярно расположенными жгутиками; эти организмы по определению исключаются из группы аэробных псевдомонад. Число жгутиков у них, как правило, невелико — от одного до четырех, а характер их распределения четко не выявлен; обычно говорят о субполярном или дегенеративном перитрихальном жгутиковании. Помимо чисто практической трудности определения данного признака, есть еще один момент: весьма сомнительно, что он действительно имеет то таксономическое значение, которое ему приписывалось. Правильно установить пока совершенно неясное таксономическое положение палочек с неполярно расположенными жгутиками поможет, по видимому, исследование генетического родства с помощью гибридизации нуклеиновых кислот, столь успешно используемое для установления родственных отношений среди аэробных псевдомонад.

В настоящее время представителей родов *Rhizobium* и *Agrobacterium* различают по характеру их взаимодействия с растениями, описанному ниже. К роду *Alcaligenes* относят всех прочих грамотрицательных палочковидных аэробов с неполярно расположенными жгутиками.

Наиболее детально исследован род *Rhizobium* (клубеньковые бактерии), поскольку он имеет большое сельскохозяйственное значение. Клубеньковые бактерии могут проникать в корневые волоски бобовых растений, вызывая образование корневых клубеньков, в которых они развиваются как внутриклеточные симбионты и осуществляют фиксацию азота (более подробно см. гл. 27). Однако чистые культуры *Rhizobia* не могут расти за счет N_2^1 . Этот любопытный факт недав-

¹⁾ В настоящее время показано, что некоторые виды *Rhizobium* способны фиксировать азот и вне растения при низком парциальном давлении кислорода. — *Прим. ред.*

по нашел свое объяснение. Хотя клубеньковые бактерии являются строгими аэробами, их нитрогенеза чрезвычайно чувствительна к инактивирующему действию кислорода. Поэтому фермент активен лишь в культуре, находящейся при очень низких концентрациях O_2 , когда рост ее сильно подавлен. Следовательно, корневой клубенок обеспечивает особые условия, способствующие поддержанию высокой активности нитрогеназы. Известно 6 видов клубеньковых бактерий, которые различаются в основном по спектру бобовых растений-хозяев; этот спектр относительно узок и специфичен для каждого вида. Род почти наверняка гетерогенен: его можно разделить на две группы, различающиеся по характеру расположения жгутиков и скорости роста на сложных средах (табл. 19.8). Хотя клубеньковые бактерии могут существовать

ТАБЛИЦА 19.8
ДВЕ ПОДГРУППЫ РОДА *RHIZOBIUM*

	ГЦ-со- держа- ние, ДНК, %	Жгутики		Рост на слож- ных средах	Предпочи- тельные источники углерода	Потреб- ность в витаминах	Типичные виды	Расте- ния- хозяева
		число	располо- жение					
Подгруп- па I	59—63	2—6	Пери- трихаль- ное	Быст- рый	Глюкоза, фруктоза	Биотин (некото- рые виды)	<i>R. legu- minosu- rum</i>	Горох, вика, чече- вица
Подгруп- па II	62—66	1	Субпо- лярное	Мед- лен- ный	Пентозы	Отсут- ствует	<i>R. lupini</i>	Лю- пины

некоторое время в почве, они, по-видимому, не способны расти и конкурировать с представителями свободноживущей почвенной микрофлоры. Поэтому при введении бобовых растений на тех площадях, где они ранее не культивировались, для обеспечения образования клубеньков и фиксации азота необходимо инокулировать семена соответствующим симбионтом.

Бактерии рода *Agrobacterium* ответственны за образование галлов, или опухолей на корнях или стеблях у растений многих семейств. Основным представителем этого рода является бактерия *A. tumefaciens*; выяснение природы ее взаимодействия с растением-хозяином является весьма интересной и до сих пор нерешенной проблемой. Присутствие бактерий необходимо для начала развития опухоли, однако бактерии вскоре исчезают из опухоли, которая продолжает развиваться без них. Отсюда можно заключить, что заражение приводит к трансмиссивной генетической модификации растительных клеток, но природа и механизм индуцированного таким образом генетического изменения остаются неиз-
вестными.

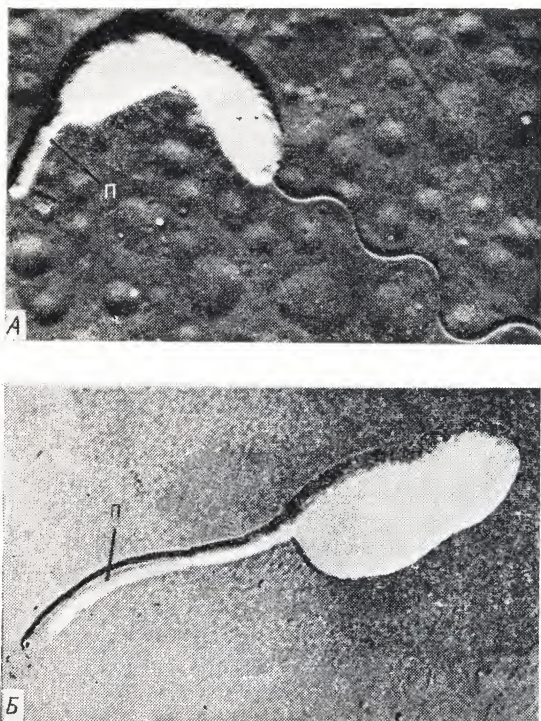


Рис. 19.6. Электронные микрофотографии клеток *Caulobacter* (А) и *Asticcacaulis* (Б) ($\times 34\,000$), контрастированных напылением металла; видно различие в месте прикрепления простеки (п). Делящаяся клетка *Caulobacter* образовала жгутик на апикальном полюсе в том месте, где впоследствии разовьется новая простека. Клетка *Asticcacaulis* находится на ранней стадии деления, и субполярный жгутик еще не начал развиваться. (С любезного разрешения д-ра Дж. Пойндекстера.)

ГРУППА КАУЛОБАКТЕРА

Группа каулобактера состоит в основном из водных организмов, встречающихся как в пресной, так и в морской воде. Эти простекобактерии отличаются от всех других грамотрицательных аэробных хемогетеротрофов своим уникальным жизненным циклом, который описан в гл. 5. Два рода, *Caulobacter* и *Asticcacaulis* (рис. 19.6), различаются по расположению жгутика и простеки, полярному у *Caulobacter* и субполярному или латеральному у *Asticcacaulis*.

За счет образования внеклеточного адгезивного устройства каулобактеры могут неспецифически прикрепляться к твердым субстратам, включая клеточные стенки других микроорганизмов (рис. 19.7). В природе они, по всей видимости, растут, присоединившись к микроорганизмам большего размера (водорослям, простейшим и другим бактериям) и используя органические вещества, секретируемые этими организмами. По сравнению с другими аэробными хемогетеротрофами из тех же водных местообитаний (например, аэробными псевдомонадами) скорость роста этих бактерий даже в сложных средах низка. Минимальное время генерации никогда не бывает меньше 2 ч, а для многих видов достигает 4—6 ч. Для большинства каулобактеров необходимы органи-

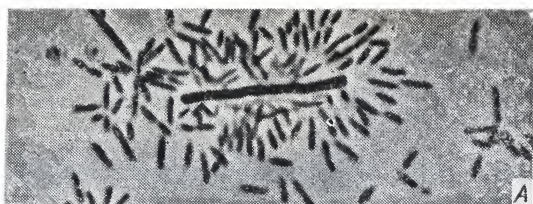
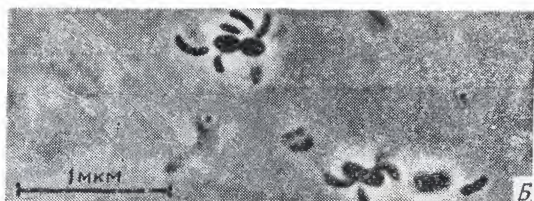


Рис. 19.7. Прикрепление *Caulobacter* к *Bacillus* (А) и *Azotobacter* (Б). [Poindexter J. L. S., Biological properties and classification of the *Caulobacter* group, Bact. Rev., 28, 231 (1962).]



ческие факторы роста, а круг используемых ими органических субстратов более узок, чем у аэробных псевдомонад. Поэтому способность прикрепляться к другим микроорганизмам позволяет им успешно конкурировать в естественных условиях с другими хемотротрофами.

ГРУППА АЗОТОБАКТЕРА

Эти палочковидные организмы обладают свойством, не встречающимся ни у каких других грамотрицательных хемотротрофов, — они способны активно фиксировать молекулярный азот в аэробных условиях. Если учесть чрезвычайную чувствительность нитрогеназы к инактивации кислородом, существование такой способности у бактерий, являющихся облигатными аэробами, представляется парадоксальным. Совершенно ясно, что бактерии группы азотобактера должны обладать специальными механизмами для защиты нитрогеназы, так как факультативные анаэробные азотфиксирующие хемотротрофы, например *Bacillus polymyxa*, могут поддерживать нитрогеназную активность только при росте в отсутствие кислорода. Азотобактеры обладают чрезвычайно высокой скоростью дыхания, гораздо более высокой, чем у всех других аэробных бактерий; возможно, это мешает проникновению O_2 в те места внутри клетки, где локализована нитрогеназа. Высказывалось также предположение, что в клетках азотобактеров нитрогеназа находится в особом конформационном состоянии, делающем ее устойчивой к кислороду.

Представители группы азотобактера имеют овальную или палочковидную форму, клетки большинства видов велики по размерам (до 2 мкм в ширину). В качестве запасного вещества эти бактерии синтезируют поли- β -оксимасляную кислоту. Культуры на твердых средах имеют характерный слизистый

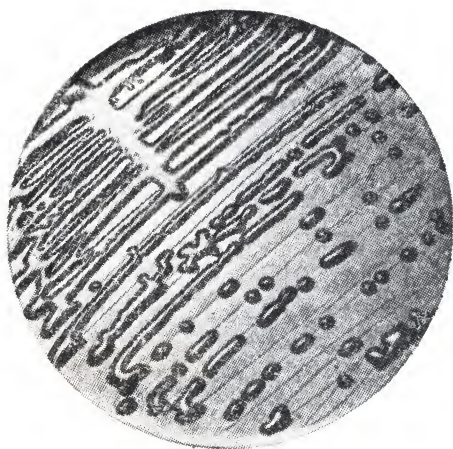


Рис. 19.8. Штриховой посев *Azotobacter vinelandii*, на котором видны гладкие блестящие колонии, типичные для *Azotobacter*. (С любезного разрешения О. Висса; из *Elementary Microbiology*, New York, Wiley, 1963.)

вид (рис. 19.8), поскольку данные организмы образуют большое количество внеклеточного полисахарида. Члены родов *Azotobacter* и *Azomonas* (табл. 19.9) — обычные обитатели нейтральных и щелочных почв и водоемов умеренного пояса. В тропических районах основными представителями аэроб-

ТАБЛИЦА 19.9
СВОЙСТВА ОСНОВНЫХ РОДОВ ГРУППЫ АЗОТОБАКТЕРА

	Характер жгутикования	ГЦ-со- держа- ние ДНК, %	Обра- зова- ние цист	Минималь- ное значе- ние pH, при кото- ром возможен рост	Местообитание
<i>Azotobacter</i>	Перитрихальный	63—66	+	5,5	Нейтральные и щелочные почвы Вода ¹
<i>Azomonas</i>	Перитрихальный или полярный	53—59	—	4,5	
<i>Beijerinckia</i>	Перитрихальный или отсутствие жгутиков	55—60	—	3,0	Кислые почвы тро- пических райо- нов

¹ Один из представителей рода является почвенным микроорганизмом.

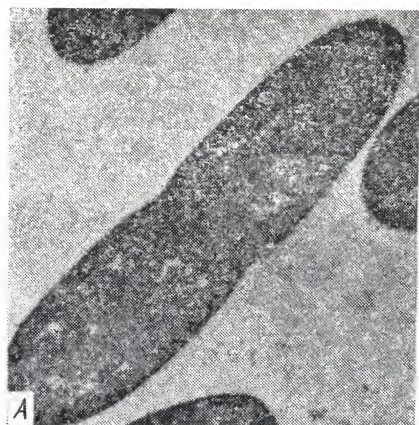
ной азотфиксирующей микрофлоры почвы являются существенно более кислотоустойчивые бактерии рода *Beijerinckia*. Эти бактерии могут расти при низких значениях pH (вплоть до 3,0) и, таким образом, хорошо приспособлены к относительно кислым почвам, характерным для этой климатической зоны.

Представители рода *Azotobacter* (но не двух других родов) образуют особые покоящиеся клетки — *цисты* (рис. 19.9).

Рис. 19.9. Электронные микрофотографии тонких срезов вегетативных клеток (А) ($\times 17\,800$) и цист *Azotobacter vinelan-*

dii (Б) ($\times 10\,700$). [Wyss O., Neumann M. G., Socolofsky M. D., Development and germi-

nation of the *Azotobacter* cyst., J. Biophys. Biochem. Cytol., 10, 555 (1961).]



Эти структуры, образующиеся за счет появления дополнительных наружных слоев вокруг стенки вегетативной клетки, устойчивы к высушиванию, но не к нагреванию.

УКСУСНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

Эти палочковидные бактерии отличаются от других аэробных грамотрицательных хемогетеротрофов по ряду физиологических и метаболических свойств, связанных (по крайней мере отчасти) с их экологией. Уксуснокислые бактерии встречаются на поверхности растений, главным образом на цветках и плодах. Они обильно растут как вторичная микрофлора на разлагающихся растительных остатках при аэробных условиях вслед за первоначальным спиртовым сбраживанием сахаров дрожжами. В таких условиях в качестве окисляемого субстрата они используют этиловый спирт, превращая его в уксусную кислоту. Источником энергии для уксуснокислых бактерий могут также служить многие углеводы и первичные и вторичные спирты. Их окисление приводит к временному или постоянному накоплению частично окисленных органических продуктов. Поскольку для большинства представителей этой группы бактерий характерны относительно сложные потребности в факторах роста, их обычно выращивают на богатых средах (например, дрожжевом экстракте), к которым добавлен окисляемый субстрат. Эти клетки ацидофильны, они растут при весьма низких значениях рН (около 4,0) с оптимумом рН между 5,0 и 6,0.

133 Благодаря своей способности в почти стехиометрических количествах превращать многие органические соединения в

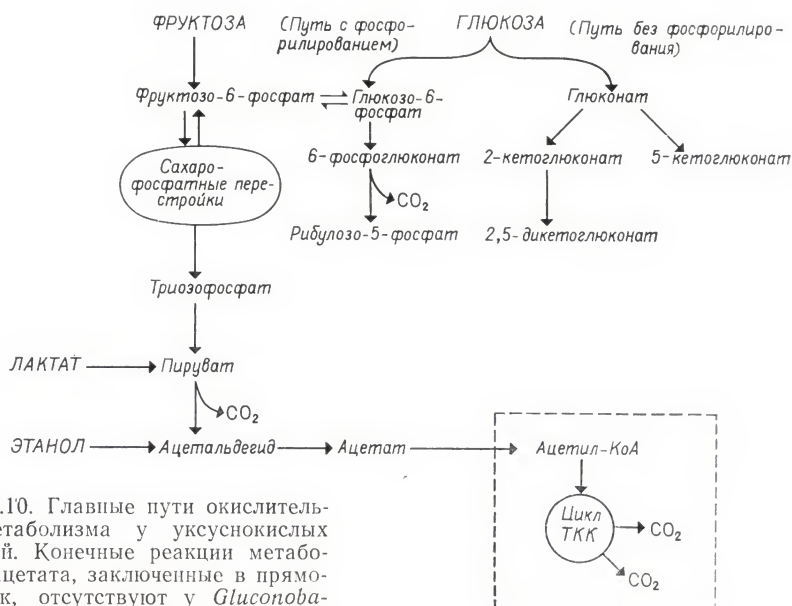


Рис. 19.10. Главные пути окислительного метаболизма у уксуснокислых бактерий. Конечные реакции метаболизма ацетата, заключенные в прямоугольник, отсутствуют у *Gluconobacter*. Первичные субстраты выделены прописными буквами.

частично окисленные органические конечные продукты, уксуснокислые бактерии имеют большое промышленное значение. В основном они используются для производства уксуса из продуктов, содержащих спирт (например, вина или сидра).

Два рода уксуснокислых бактерий (табл. 19.10) различаются по характеру жгутикования и по степени окисления

ТАБЛИЦА 19.10

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ РОДОВ *GLUCONOBACTER* И *ACETOBACTER*

Род	Характер жгутикования	ГЦ содержание ДНК, %	Наличие цикла трикарбоновых кислот
<i>Gluconobacter</i>	Полярный или отсутствие жгутиков	60—64	—
<i>Acetobacter</i>	Перитрихальный или отсутствие жгутиков	55—65	+

субстратов. У бактерий группы *Gluconobacter* не функционирует цикл трикарбоновых кислот, и они не могут окислять ацетат; вместо этого они окисляют этиловый спирт (и другие субстраты, которые могут превращаться в ацетат) и накапливают в стехиометрических количествах уксусную кислоту. По этой причине в производстве уксусной кислоты бактерии группы *Gluconobacter* называются *недоокислителями*.

ТАБЛИЦА 19.11

ПРИМЕРЫ ОКИСЛЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ СПИРТОВ
УКСУСНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

1. Окисление первичных спиртов через альдегиды до карбоновых кислот

Субстрат	Реакция
Этанол	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH}$
Этиленгликоль	$\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_2\text{OHCHO} \rightarrow \text{CH}_2\text{OHCOOH}$
1,3-бутандиол	$\text{CH}_3\text{CHONCH}_2\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_3\text{CHONCH}_2\text{CHO} \rightarrow$ $\rightarrow \text{CH}_3\text{CHONCH}_2\text{COOH}$

2. Окисление вторичных спиртов до кетонов

Субстрат	Реакция
Глицерин	$\text{CH}_2\text{OHCHONCH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_2\text{OH} \cdot \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$
2,3-бутандиол	$\text{CH}_3\text{CHONCHONCH}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{CHON} \cdot \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} \cdot \text{CH}_3$
1,2-пропандиол	$\text{CH}_3\text{CHONCH}_2\text{OH} \rightarrow \text{CH}_3 \cdot \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$
Сахарные спирты (окисление до кето- сахаров)	Маннит \rightarrow Фруктоза Сорбит \rightarrow Сорбоза Эритрит \rightarrow Эритроулоза

У бактерий группы *Acetobacter* цикл трикарбоновых кислот функционирует, и поэтому они могут окислять ацетат до CO_2 . При росте за счет этилового спирта эти бактерии быстро превращают его в уксусную кислоту, которая затем с меньшей скоростью окисляется до конца; благодаря этому свойству такие бактерии получили название *переокислителей*. За исключением упомянутого различия, окислительный метаболизм всех уксуснокислых бактерий сходен и имеет ряд необычных свойств. Сахара окисляются до CO_2 исключительно по пентозофосфатному пути, поскольку путь Энтнера — Дудорова, характерный для аэробных хемогетеротрофов, у бактерий этой группы не действует. Метаболизм пирувиноградной кислоты также необычен; в то время как у большинства аэробов пируват окисляется до ацетил-КоА и CO_2 , уксуснокислые бактерии декарбоксилируют его неокислительным образом до ацетальдегида. Ацетальдегид является, кроме того, первым промежуточным соединением в процессе диссимиляции этилового спирта, поэтому он находится в точке, где сходятся пути окисления субстратов, метаболизируемых через пируват, и пути окисления этилового спирта (рис. 19.10).

Помимо окислительного пентозофосфатного пути уксус-

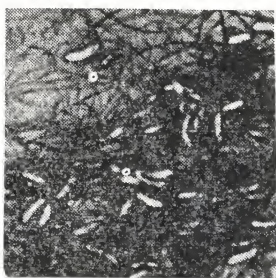


Рис. 19.11. Внеклеточное образование целлюлозы клетками *Acetobacter xylinum* ($\times 860$). Бактериальные клетки запутаны в сетке, образуемой нитями целлюлозы. [Frateur J., Essai sur la systématique des acétobacters, La Cellule, 53, 3 (1950).]

нокислые бактерии обладают вторым путем окисления глюкозы, не сопровождающимся ее фосфорилированием и приводящим к накоплению частично окисленных продуктов — глюконата и получающихся из него кетокислот (рис. 19.10). Таким образом, рост за счет глюкозы всегда сопровождается превращением большей части субстрата в эти кислые производные.

Кроме первичных спиртов, окисляемых с накоплением соответствующих карбоновых кислот (примером чего служит окисление этилового спирта в уксусную кислоту), уксуснокислые бактерии могут окислять до кетонов многие вторичные спирты. При этом окисляются только полиспирты, поскольку вторичная спиртовая группа, претерпевающая окисление, должна находиться по соседству с другой спиртовой группой, первичной или вторичной. Некоторые примеры окисления первичных и вторичных спиртов уксуснокислыми бактериями приведены в табл. 19.11.

Бактерии *Acetobacter xylinum* являются одним из немногих прокариот, способных синтезировать полисахарид целлюлозу. Это вещество образуется в результате роста бактерий за счет глюкозы и некоторых других сахаров и откладывается вне клеток в виде рыхлой сетки (рис. 19.11). В жидких культурах этот организм образует плотную, покрывающую клетки целлюлозную пленку толщиной до нескольких сантиметров.

ГРУППА СФЕРОТИЛЮСА

Бактерии группы сферотилюса являются относительно крупными палочковидными организмами, растущими в виде цепочек клеток, заключенных в чехлы (рис. 19.12); обычно они прикрепляются к твердым субстратам с помощью базальных устройств. Размножение происходит в результате выходов из открытой верхушки чехла подвижных клеток, имеющих полярно или субполярно прикрепленные жгутики. Все эти бактерии являются водными организмами; два основных рода группы различаются по местообитаниям и структуре чехлов. Бактерии рода *Sphaerotilus* образуют тонкие чехлы, обычно без инкрустаций, и встречаются в воде с медленным

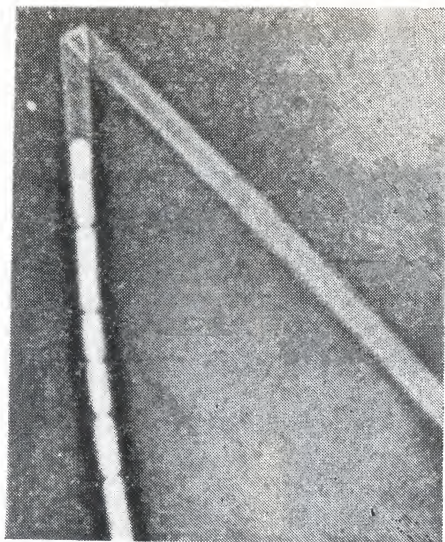


Рис. 19.12. Микрофотография *Sphaerotilus*, на которой видна цепочка клеток в чехле [Stokes J. L., Studies on the filamentous sheathed iron bacterium *Sphaerotilus natans*, J. Bacteriol., 67, 281 (1954).]

течением, загрязненной сточными водами или другими органическими веществами. Растут они в виде длинных слизистых кистей, прикрепленных к твердым субстратам, развиваются также в аэрируемых прудах — отстойниках сточных вод. Представители рода *Leptothrix* часто встречаются в незагрязненных пресных водах, содержащих соли железа; их чехлы обильно инкрустированы гидратами окисей железа или марганца (рис. 19.13, Б).

Чехлы имеют сложный химический состав: в них входят белки, полисахариды и липиды. Опыты с применением изотопов показывают, что новый материал чехла откладывается только на верхушке нити, по-видимому, клеткой, находящейся на конце растущей цепочки.

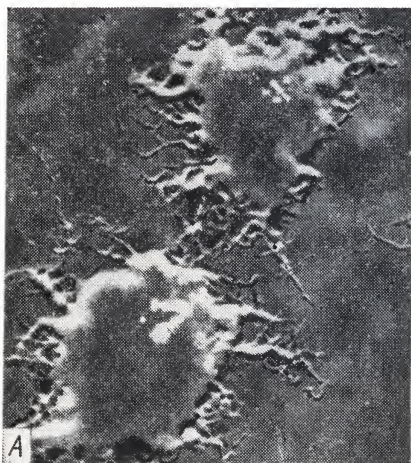
Дыхательными субстратами бактерий группы сферотилиуса являются спирты, органические кислоты и сахара. Для роста требуется витамин В₁₂. Хотя данные бактерии могут использовать неорганические источники азота, лучше всего они растут в том случае, если источниками азота служат аминокислоты.

Исходя из того факта, что *Leptothrix* spp. откладывают в чехле гидроокись железа, Виноградский предположил, что эти бактерии являются железooksисляющими хемоавтотрофами. Последующие работы, однако, не смогли подтвердить эту гипотезу. Хотя виды *Leptothrix* действительно окисляют соли железа и марганца, этот процесс, по-видимому, является результатом неспецифической реакции, катализируемой белками чехла и приводящей к значительным отложениям окисей металлов на поверхности или внутри него. Очевидно, этот

Рис. 19.13. Колонии двух видов *Sphaerotilus*. А. *Sphaerotilus natans* (×22). Б. *Sphaerotilus discophorus*, растущая на

агаре с $MnCO_3$ (×146). Темный цвет колоний обусловлен интенсивными включениями в оболочку окиси марганца.

(С любезного разрешения Дж. Стоукса и М. Роуфа.)



процесс не может обеспечить заключенные в чехол клетки АТФ, и все современные данные свидетельствуют, что *Leptothrix* spp., подобно *Sphaerotilus*, являются облигатными хемогетеротрофами.

СПИРИЛЛЫ

Спириллы являются аэробными хемогетеротрофами, для которых характерна спиральная форма клеток с биполярными пучками жгутиков (рис. 19.14). Все они являются водными организмами — обычными обитателями как пресных, так и морских водоемов. Группа состоит из трех родов (табл. 19.12).

Субстратами, чаще всего используемыми в качестве источников углерода и энергии, является ограниченный набор аминокислот и органических кислот. Сахара этими организ-

ТАБЛИЦА 19.12

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ СПИРИЛЛ

Род	Диаметр клеток, мкм	ГЦ-содержание ДНК, %	Облигатная микроаэрофильность	Рост в присутствии NaCl			Местообитание
				0	3%	9%	
<i>Spirillum</i>	1,4—1,7	38	+	+	—	—	Пресная вода
<i>Aquaspirillum</i>	0,2—1,4	50—65	—	+	—	—	Пресная вода
<i>Oceanospirillum</i>	0,3—1,2	42—48	—	—	+	+	Морская вода



Рис. 19.14. Отдельная клетка самой большой спироиллы *S. volutans*; фазовый контраст. Обратите внимание на пучок жгутиков на одном из полюсов клетки. [Krieg N. R., Cultivation of *Spirillum volutans* in bacteria-free environment, J. Bacteriol., 90, 817 (1965).]

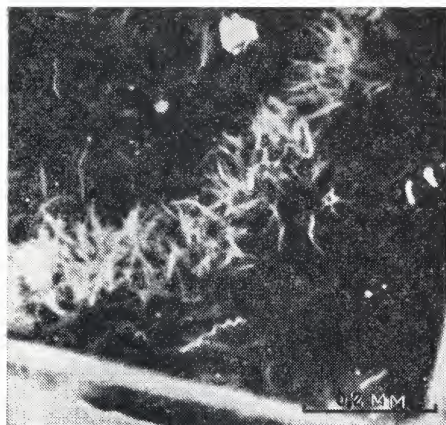


Рис. 19.15. Типичное аэротактическое распределение клеток *Spirillum* на влажном предметном стекле, где они собираются на некотором расстоянии от поверхности раздела воздух — вода. [Krieg N. R., Cultivation of *Spirillum volutans* in bacteria-free environment, J. Bacteriol., 90, 817 (1965).]

мами (за исключением одного вида, способного расти на фруктозе) не используются. Физиологическим свойством, присущим до некоторой степени всем спироиллам, является то, что они предпочитают среды с низким содержанием кислорода — особенность, редко встречающаяся у облигатно аэробных бактерий. Склонность этих бактерий к микроаэрофильности проявляется в их поведении на влажном предметном стекле: клетки, обладающие высокой подвижностью, скапливаются на некотором расстоянии от края покровного стекла (рис. 19.15). Несмотря на это свойство, большинство спироилл образуют колонии на поверхности агаровых сред. Однако *Spirillum volutans*, вид с очень крупными клетками, нельзя выделить при штриховом посеве на чашках при доступе воз-

духа. Он является облигатным микроаэрофилом, который может расти только в обедненной по кислороду среде, содержащей от 3 до 9% O₂ вместо обычных для атмосферы 20%.

CAMPYLOBACTER И BDELLOVIBRIO

Спириллам, по-видимому, родственны два рода бактерий-паразитов с очень маленькими изогнутыми или спиральными клетками, имеющими по одному полярно расположенному жгутику (табл. 19.13). Представители рода *Campylobacter* являются паразитами или патогенны для животных и характеризуются сложными и пока неустановленными потребно-

ТАБЛИЦА 19.13

Campylobacter и *Bdellovibrio*

Род	Структура клеток	ГЦ-содержание ДНК, %	Экологические свойства
<i>Campylobacter</i>	Изогнутые или спиральные палочки размером (0,3—0,8) × (0,5—5) мкм; имеют единственный полярно расположенный жгутик	30—35	Паразиты млекопитающих
<i>Bdellovibrio</i>	Изогнутые или спиральные палочки размером (0,3—0,4) × (0,8—1,2) мкм; имеют единственный полярно расположенный жгутик	43—50	Паразиты других грамотрицательных бактерий

стями в отношении питания. Они в значительной мере микроаэрофильны и, как большинство спирилл, в качестве источников энергии используют аминокислоты и органические кислоты, но не могут расти за счет углеводов. Представители рода *Bdellovibrio* являются паразитами других грамотрицательных бактерий; они прикрепляются к клеткам хозяина, проникают внутрь и убивают их. Многие виды пока не удалось вырастить в отсутствие бактерий-хозяев. Некоторые виды, являющиеся факультативными паразитами, могут расти на сложных средах. Свойства *Bdellovibrio* более подробно рассматриваются в гл. 28.

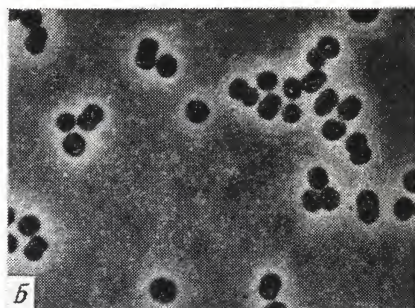
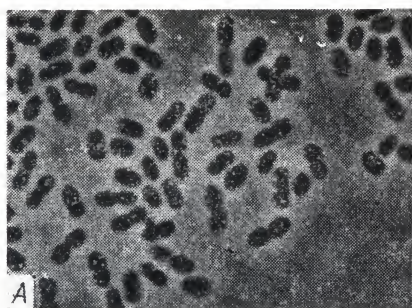
ГРУППА МОРАКСЕЛЛЫ—НЕЙССЕРИИ

Эта группа бактерий состоит из коротких палочек и кокков, не обладающих жгутиками (рис. 19.16). ГЦ-содержание ДНК варьирует примерно от 40 до 50%.

Родовые признаки приведены в табл. 19.14. Необычным свойством, характерным для паразитических представителей этой группы, является чрезвычайная чувствительность к пенициллину: за исключением штаммов, приобретших устой-

Рис. 19.16. Бактерии нейссерии; фазовый контраст ($\times 2200$). А. *Moraxella* — моракселлы —

xella osloensis. Б. *Neisseria catarrhalis*.



чивость к этому препарату, рост бактерий подавляется при концентрациях пенициллина от 1 до 10 ед./мл, тогда как обычно его ингибирующие концентрации для грамотрицательных бактерий лежат в пределах от 100 до 1000 ед./мл.

Сферические бактерии родов *Neisseria* и *Branhamella* являются паразитами, обитающими в слизистых млекопитающих. Род *Neisseria* включает два вида, патогенных для человека, — возбудителей гонорреи и менингита. Как видно из табл. 19.14, эти два рода очень близки по своим фенотипи-

ТАБЛИЦА 19.14

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ РОДОВ ГРУППЫ МОРАКСЕЛЛЫ — НЕЙССЕРИИ

Род	Форма клеток	Число плоскостей деления	ГЦ-содержание ДНК, %	Устойчивость к пенициллину, 10 ед.-мл ⁻¹	Потребность в факторах роста	Оксидазная реакция
<i>Neisseria</i>	Кокки	2	47—52	—	+	+
<i>Branhamella</i>	Кокки	2	40—45	—	+	+
<i>Moraxella</i>	Палочки	1	40—46	—	\pm ¹	+
<i>Acinetobacter</i>	Палочки ²	1	39—47	+	—	—

¹ Знак « \pm » означает, что данный признак варьирует в пределах рода.

² Имеют форму палочек лишь во время экспоненциальной фазы роста культур; в стационарной фазе приобретают сферическую форму.

ческим признакам, но слегка различаются по диапазону изменений ГЦ-содержания ДНК. Их разделение опирается в основном на генетические данные: исследования трансформации с помощью ДНК показали отсутствие генетического родства между представителями этих двух родов, тогда как бактерии рода *Branhamella* генетически родственны палочковидным бактериям рода *Moraxella*. Палочковидные бактерии родов *Moraxella* и *Acinetobacter* (рис. 19.16), сходные по ряду фенотипических признаков и по нуклеотидному составу

ДНК, не проявляют генетического родства ни при трансформации, ни при гибридизации нуклеиновых кислот *in vitro*. Род *Moraxella*, подобно родам *Neisseria* и *Branhamella*, состоит из паразитов слизистых позвоночных, тогда как род *Acinetobacter* представлен свободноживущими бактериями; область распространения их в природе необычайно широка. Как видно из табл. 19.14, эти два рода легче всего различаются по оксидазному тесту и по чувствительности к пенициллину.

Представители рода *Acinetobacter* являются всеядными хемогетеротрофами. Круг субстратов, используемых ими в качестве источников углерода и энергии, примерно такой же, как у аэробных псевдомонад; подобно этим организмам, бактерии рода *Acinetobacter* являются обычными обитателями почвы и вод и выделяются оттуда с помощью сходных методов обогащения. Вид микроорганизмов, развивающихся в таких обогащенных культурах, определяется, по-видимому, в основном вторичным фактором среды — аэрацией. В невстряхиваемых жидких обогатительных культурах доминируют, как правило, аэробные псевдомонады, так как благодаря своей подвижности и аэротаксису эти организмы могут занимать пограничный слой воды и развиваться там, вытесняя акинетобактеров. В точно такой же культуре с тем же засевом, но при механическом встряхивании, обеспечивающем хорошую аэрацию, часто вырастают главным образом акинетобактеры. В этих условиях селективное преимущество аэробных псевдомонад, связанное с их способностью занимать хорошо аэрируемый поверхностный слой невстряхиваемой культуры, пропадает.

Акинетобактеры, подобно бактериям родов *Branhamella* и *Moraxella*, не способны использовать гексозы в качестве источников углерода и энергии. Тем не менее многие штаммы *Acinetobacter* могут образовывать кислоту из глюкозы и других сахаров при росте на сложных средах, содержащих эти углеводы. Образование кислоты происходит за счет окисления альдозных сахаров до соответствующих сахарных кислот, например в ходе реакции, которую в упрощенном виде можно представить так:



Эта реакция осуществляется крайне неспецифичным ферментом, который окисляет по крайней мере десять разных сахаров, включая пентозы, гексозы и дисахариды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- 142 Asai T., 1973, *Acetic Acid Bacteria, Classification and Biochemical Activities*, Baltimore, University Park Press.

Clarke P. H., Richmond M. H. (eds.) (1975), Genetics and Biochemistry of *Pseudomonas*, New York, John Wiley.

Обзоры и оригинальные работы

- Andrewes A. G., Hertzberg S., Liaaen-Jensen S., Starr M. P. (1973), *Xanthomonas* Pigments. 2. The *Xanthomonas* «Carotenoids» — Non-Carotenoid Brominated Arylpolyene Esters, Acta Chem. Scandinavica, **27**, 2383.
- Baumann P., Doudoroff M., Stanier R. Y. (1968), A Study of the *Moraxella* Group. I. Genus *Moraxella* and the *Neisseria catarrhalis* Group, J. Bact., **95**, 58.
- Baumann P. (1968), A Study of the *Moraxella* Group. II. Oxidase-Negative Species (Genus *Acinetobacter*), J. Bact., **95**, 1520.
- DeLey J. (1962), Comparative Biochemistry and Enzymology in Bacterial Classification, in Microbial Classification, G. C. Ainsworth and P. H. A. Sneath (eds.), Cambridge, England, Cambridge University Press, p. 164.
- Dixon R. O. D. (1969), Rhizobia (with Particular Reference to Relations to Host Plants), Ann. Rev. Microbiol., **23**, 137.
- Henriksen S. D. (1973), *Moraxella*, *Acinetobacter* and the *Mimae*, Bact. Revs., **37**, 522.
- Hylemon P. B., Wells J. S., Krieg N. R., Jannasch H. W. (1973), The Genus *Spirillum*: A Taxonomic Study, Int. J. System. Bact., **23**, 340.
- Jensen H. L. (1954), The Azotobacteriaceae, Bact. Revs., **18**, 195.
- Mulder E. G. (1964), Iron Bacteria, Particularly Those of the *Leptothrix* — *Sphaerotilus* Group, J. Appl. Bact., **27**, 151.
- Palleroni N. J., Doudoroff M. (1972), Some Properties and Taxonomic Subdivision of the Genus *Pseudomonas*, Ann. Rev. Phytopathol., **10**, 73.
- Palleroni N. J., Kunisawa R., Contopoulou R., Doudoroff M. (1973), Nucleic Acid Homologies in the Genus *Pseudomonas*, Int. J. System. Bact., **23**, 333.
- Poindexter J. S. (1964), Biological Properties and Classification of the *Caulobacter* Group, Bact. Revs., **28**, 231.
- Schmidt J. L. (1971), Prosthecae Bacteria, Ann. Rev. Microbiol., **25**, 93.
- Stanier R. Y., Palleroni N. J., Doudoroff M. (1966), The Aerobic Pseudomonads: A Taxonomic Study, J. Gen. Microbiol., **43**, 159.
- Starr M. P., Seidler R. J. (1971), The Bdellovibrios, Ann. Rev. Microbiol., **25**, 649.
- Véron M., Chatelain R. (1973), Taxonomic Study of the Genus *Campylobacter* Sebald and Véron, Int. J. System. Bact., **23**, 122.
- White L. O. (1972), The Taxonomy of the Crown-Gall Organism *Agrobacterium tumefaciens* and Its Relationship to Rhizobia and Other Agrobacteria, J. Gen. Microbiol., **72**, 565.

20 ЭНТЕРОБАКТЕРИИ И РОДСТВЕННЫЕ ИМ ОРГАНИЗМЫ

Организмы, рассматриваемые в этой главе, образуют одну из самых многочисленных четко очерченных групп грамотрицательных нефотосинтезирующих бактерий. Их небольшие клетки палочковидной формы, прямые или изогнутые, по ширине не превышают 0,5 мкм. Некоторые из этих бактерий всегда неподвижны; среди подвижных форм встречаются организмы с перитрихальным, полярным и смешанным полярно-перитрихальным расположением жгутиков. Их можно отличить от всех других грамотрицательных бактерий сходной структуры по свойственной им факультативной анаэробности. В анаэробных условиях обеспечение энергией идет чаще всего за счет сбраживания углеводов; в аэробных условиях в качестве субстратов дыхания могут использоваться разнообразные органические соединения.

Классическим представителем данной группы бактерий является *Escherichia coli*, один из наиболее характерных обитателей нормальной кишечной флоры млекопитающих. В близком родстве с этим организмом находятся колиформные бактерии родов *Salmonella* и *Shigella*. Они являются патогенами, ответственными за такие кишечные инфекции, как бактериальная дизентерия, брюшной тиф и пищевые отравления.

Явно родственны колиформам, но отличаются экологически роды *Enterobacter*, *Serratia* и *Proteus* (представители которых встречаются в основном в почве и воде), а также патогенный для растений род *Erwinia*. Вместе с колибактериями эти роды давно помещают в единое семейство Enterobacteriaceae. Все они образуют кишечную группу бактерий в ее классическом определении.

Как недавно выяснилось, некоторые патогенные для животных бактерии, ранее относимые к нечетко определенному роду *Pasteurella*, на самом деле являются представителями энтеробактерий. Эти организмы классифицируются сейчас как представители рода *Yersinia*. К ним относится *Yersinia pestis*, возбудитель бубонной чумы — инфекционного заболевания, существенно отличающегося от кишечных инфекций как по характеру передачи, так и по симптомам.

Все бактерии, о которых шла речь выше, либо неподвижны, либо имеют перитрихально расположенные жгутики. Первостепенное значение, которое раньше придавалось характеру жгутикования как таксономическому признаку, помешало вовремя осознать тот факт, что некоторые бактерии с полярным жгутикованием также родственны бактериям кишечной группы и могут рассматриваться как ее естественные члены.

Все эти бактерии являются водными организмами и встречаются как в пресной (*Vibrio*, *Aeromonas*), так и в морской воде (*Beneckea*, *Photobacterium*). Для многих морских форм характерен смешанный, полярно-перитрихальный характер жгутикования. Некоторые виды патогенны для животных; к ним относятся два вида, вызывающих кишечные заболевания (*Vibrio cholerae*, *Beneckea parahemolytica*).

Общепринятого названия для всего этого сообщества в целом пока не существует. Мы будем называть эти микроорганизмы энтеробактериями, но следует подчеркнуть, что данная группа включает роды (группа с полярным жгутикованием), которые выходят за рамки традиционного определения семейства.

ОБЩИЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Большинство энтеробактерий могут использовать в качестве субстратов для дыхательного метаболизма значительное число простых органических соединений — органические кислоты, аминокислоты, углеводы. В аэробных условиях все эти бактерии хорошо растут на обычных сложных бактериологических средах, азотистые компоненты которых (аминокислоты и пептиды) обеспечивают их окисляемыми субстратами. В анаэробных условиях, однако, рост становится строго зависимым от наличия сбраживаемого углевода. Некоторые моносахариды, дисахариды и полиспирты сбраживаются всеми представителями данной группы. Использование полисахаридов менее распространено; однако пектин разлагается многими бактериями, патогенными для растений (*Erwinia*), а хитин и альгиновая кислота — многими морскими видами рода *Beneckea*.

Хотя энтеробактерии часто выращивают на сложных средах, минимальные пищевые потребности этих организмов, как правило, весьма просты. Представители многих родов вообще не нуждаются в факторах роста (например, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, большинство видов *Salmonella*), а у аукоотрофных организмов эти потребности обычно очень просты. Особенно распространена потребность в никотиновой кислоте, что характерно для многих видов из родов *Proteus*, *Erwinia* и *Shigella*. У *Salmonella typhi* имеется специфическая потребность в триптофане, а у некоторых видов *Photobacterium* — в метионине.

Исследование механизма регуляции биосинтеза аминокислот у многих энтеробактерий выявило характерные особенности этого процесса, отличающие данные организмы от всех других бактерий. Например, первая стадия в биосинтезе аминокислот семейства аспартата, превращение аспарагиновой кислоты в аспартилфосфат, у энтеробактерий всегда осуществляется тремя изофункциональными аспараткиназами:

аспартаткиназой I, которая и ингибируется, и репрессируется треонином, аспартаткиназой II, репрессируемой, но не ингибируемой метионином, и аспартаткиназой III, и ингибируемой, и репрессируемой лизином. Этот тип регуляции аспарагинового пути не был обнаружен ни у одной бактерии вне кишечной группы.

ГЦ-содержание ДНК энтеробактерий варьирует в довольно широких пределах — от 37 до 63% (табл. 20.1). За исключением рода *Proteus*, представители которого существенно

ТАБЛИЦА 20.1

ДИАПАЗОН ИЗМЕРЕНИЙ ГЦ-СОДЕРЖАНИЯ ДНК ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

		ГЦ-содержание ДНК. %				
		40	45	50	55	60
Перитрихальный характер жгутикования или неподвижны	<i>Escherichia</i>					
	<i>Salmonella</i>					
	<i>Shigella</i>					
	<i>Yersinia</i>					
	<i>Proteus</i>					
	<i>Erwinia</i>					
Полярный или «смешанный» характер жгутикования	<i>Enterobacter</i>					
	<i>Serratia</i>					
	<i>Vibrio</i>					
	<i>Aeromonas</i>					
	<i>Beneckea</i>					
	<i>Photobacterium</i>					

различаются по нуклеотидному составу, вариации внутри каждого рода невелики. ГЦ-содержание ДНК близкородственных организмов трех видов — *Escherichia*, *Salmonella* и *Shigella* — различаются весьма незначительно. Диапазон изменения ГЦ-содержания для «классических» бактерий семейства Enterobacteriaceae (от 37 до 59%) весьма близок к диапазону для представителей семейства с полярным жгутикованием (от 39 до 63%).

БРОЖЕНИЕ

Сбраживание сахаров у энтеробактерий осуществляется по пути Эмбдена—Мейергофа. Продукты брожения у разных представителей группы варьируют и качественно, и количественно. Однако у этих процессов имеется одно характерное биохимическое свойство, которое редко встречается при других типах бактериального брожения. Речь идет об особом способе расщепления одного из промежуточных соедине-

ний — пировиноградной кислоты, ведущем к образованию муравьиной кислоты:



Таким образом, муравьиная кислота часто является основным конечным продуктом брожения. Накапливается она, однако, не всегда, поскольку некоторые из этих бактерий обладают форматгидрогеназой, расщепляющей муравьиную кислоту до CO_2 и H_2 :



У таких организмов вместо муравьиной кислоты как конечного продукта брожения образуются эквимоларные количества H_2 и CO_2 ¹.

Наиболее распространенным типом превращения сахаров при брожении у энтеробактерий является так называемое *брожение смешанного типа*, которое приводит к образованию молочной, уксусной, янтарной и муравьиной кислот (или CO_2 и H_2), а также этилового спирта. Такой тип брожения свойствен представителям родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia* и *Vibrio*. Он встречается у некоторых видов *Aeromonas*, *Beneckea* и *Photobacterium*. Соотношение количеств разных конечных продуктов сильно варьирует как от штамма к штамму, так и для одного штамма при росте в разных условиях, например при разных значениях pH. Такая вариабельность отражает то обстоятельство, что конечные продукты образуются из пировиноградной кислоты тремя независимыми путями (рис. 20.1).

У некоторых энтеробактерий сбраживание сахаров приводит к синтезу еще одного конечного продукта — 2,3-бутандиола, который образуется из пировиноградной кислоты по четвертому независимому пути (рис. 20.2). *Бутандиоловое брожение* характерно для *Enterobacter* и *Serratia*, большинства видов *Erwinia* и некоторых видов *Aeromonas*, *Beneckea* и *Photobacterium*. Этот процесс сопровождается увеличением количества восстановленного конечного продукта — этанола; так как синтез бутандиола из глюкозы приводит к суммарному возрастанию восстановительного потенциала:

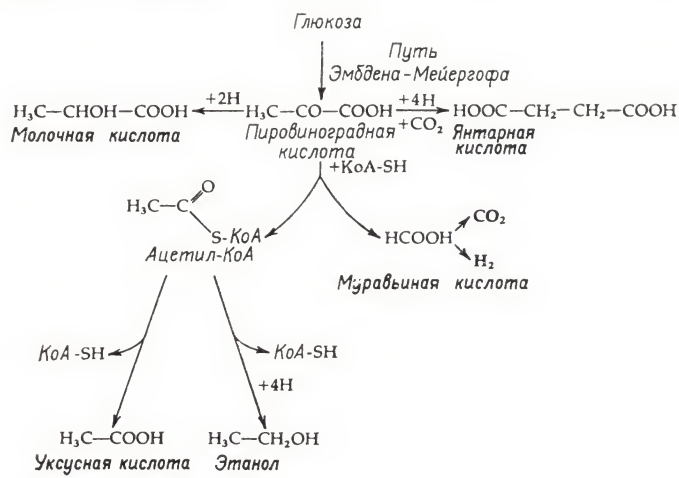


Поскольку нейтральные конечные продукты (бутандиол и в меньшей степени этанол) синтезируются в больших количе-

¹ Образование молекулярного водорода в качестве конечного продукта сбраживания сахаров свойственно также многим спорообразующим бактериям родов *Clostridium* и *Bacillus* (гл. XXII). Однако биохимический механизм, отвечающий за его образование, в этом случае иной. У спорообразующих бактерий водород обычно является непосредственным продуктом расщепления пировиноградной кислоты:



Рис. 20.1. Пути образования из пировиноградной кислоты типичных конечных продуктов (выделены жирным шрифтом) кислотного брожения смешанного типа.



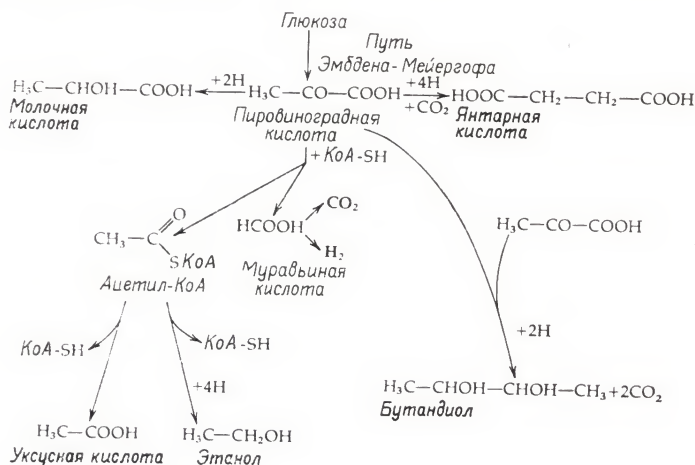
ствах, чем кислые, полное количество кислот, образующихся на 1 моль сброженной глюкозы, при бутандиоловом типе брожения существенно меньше, чем при простом брожении смешанного типа. Это иллюстрирует табл. 20.2, в которой

ТАБЛИЦА 20.2
ПРОДУКТЫ СБРАЖИВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ

Продукт	Продукты, моль на 100 моль сброженной глюкозы				
	брожение смешанного типа			бутандиоловое брожение	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aeromonas punctata</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Этанол	50	64	51	70	46
2,3-Бутандиол	—	—	—	66	64
Уксусная кислота	36	62	39	0,5	4
Молочная кислота	79	43	53	3	10
Янтарная кислота	11	22	28	—	8
Муравьиная кислота	2,5	105	73	17	48
H ₂	75	—	—	35	—
CO ₂	88	—	—	172	116
Суммарное количество	129	232	193	20	70

собраны данные по балансу брожения для ряда видов бактерий. Образование газа в результате сбраживания сахаров является очень важным различительным признаком для энтеробактерий — газообразующие бактерии рода *Escherichia* отличаются по этому критерию от патогенных видов группы

Рис. 20.2. Пути образования из пировиноградной кислоты типичных конечных продуктов (выделены жирным шрифтом) том) бутандиолового брожения.



Shigella и *Salmonella typhi*, которые сбраживают сахара без выделения газа. В случае простого брожения смешанного типа газ может образовываться только за счет расщепления муравьиной кислоты; следовательно, образование газа отражает наличие форматгидрогенлиазы. Этот ферментный комплекс, конечно, не существен для брожения и может быть утерян в результате мутации без изменения способности бактерии к брожению. И действительно, опыт показывает, что в природе существуют «неаэрогенные», т. е. не образующие газообразных продуктов штаммы такого типичного продуцента их, как *Escherichia coli*. Поэтому, хотя выделение газа представляет собой полезный признак при классификации энтеробактерий, данный критерий ни в коем случае не является безошибочным.

Бактерии, осуществляющие бутандиоловое брожение, также различаются по наличию или отсутствию форматгидрогенлиазы. Бактерии рода *Enterobacter* почти всегда обладают форматгидрогенлиазой и являются активными продуцентами газов, а бактерии рода *Serratia* не содержат этого фермента и либо вообще не образуют газообразных продуктов, либо выделяют их в очень малом количестве, если пользоваться обычным критерием — появлением пузырьков газа в маленькой перевернутой пробирке, помещенной внутри пробирки с культурой. На первый взгляд это кажется парадоксальным, так как образование бутандиола из сахаров сопровождается образованием заметного количества CO_2 . Однако этот газ очень хорошо растворим в воде, так что боль-

шая часть, если не вся углекислота, остается растворенной в среде. Когда единственным газообразным продуктом бактериального брожения является CO_2 , для его выявления могут потребоваться специальные методы. Этот вопрос будет рассмотрен в гл. 23, когда речь пойдет о молочнокислых бактериях.

Другим признаком, имеющим большое значение для идентификации энтеробактерий, является способность сбраживать дисахарид лактозу, что обусловлено наличием у этих организмов β -галактозидазы. Эффективность сбраживания лактозы зависит еще и от наличия специфической пермеазы галактозидов, которая способствует проникновению лактозы в клетку. Штаммы, имеющие β -галактозидазу, но лишенные пермеазы, не могут поглощать лактозу со скоростью, достаточной для интенсивного брожения, и обычно классифицируются как не способные к сбраживанию этого сахара. Сбраживание лактозы свойственно *Escherichia* и *Enterobacter*, но отсутствует у *Shigella*, *Salmonella* и *Proteus*. Некоторые штаммы *Shigella* образуют β -галактозидазу, но не могут сбраживать лактозу из-за отсутствия пермеазы. Типы брожения у разных родов бактерий суммированы в табл. 20.3.

ТАБЛИЦА 20.3

РАЗЛИЧНЫЕ ТИПЫ БРОЖЕНИЯ У ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И РОДСТВЕННЫХ ИМ ОРГАНИЗМОВ

-
- | |
|---|
| I. Брожение смешанного типа |
| A. Образуют $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ (содержат форматгидрогенлиазу) |
| <i>Escherichia</i> |
| <i>Proteus</i> |
| <i>Salmonella</i> (большинство видов) |
| <i>Photobacterium</i> (некоторые виды) |
| B. Не образуют газа (форматгидрогенлиаза отсутствует) |
| <i>Shigella</i> |
| <i>Salmonella typhi</i> |
| <i>Yersinia</i> |
| <i>Vibrio</i> |
| <i>Aeromonas</i> (некоторые виды) |
| <i>Photobacterium</i> (некоторые виды) |
| <i>Beneckea</i> (большинство видов) |
| II. Бутандиоловый вариант брожения смешанного типа |
| A. Образуют $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ (содержат форматгидрогенлиазу) |
| <i>Enterobacter</i> |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| <i>Photobacterium phosphoreum</i> |
| B. Образуют только CO_2 (форматгидрогенлиаза отсутствует); видимое выделение газа не выявляется или выявляется нечетко |
| <i>Serratia</i> |
| <i>Erwinia herbicola</i> и <i>E. carotovora</i> |
| <i>Beneckea alginolytica</i> |
-

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПРИЗНАКИ БАКТЕРИЙ,
ИМЕЮЩИЕ ЗНАЧЕНИЕ
ДЛЯ ИХ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Для выделения в группе энтеробактерий основных подгрупп широко используется ряд физиологических и биохимических признаков. Одним из них является оксидазная реакция, механизм которой был рассмотрен в гл. 19. Все бактерии «классической» кишечной группы (*Escherichia* — *Salmonella* — *Shigella* — *Proteus* — *Erwinia* — *Enterobacter* — *Serratia*) и рода *Yersinia* являются оксидазоотрицательными. Большинство бактерий с полярным жгутикованием оксидазоположительны; это относится к *Vibrio*, *Aeromonas* и большинству видов *Beneckea* и *Photobacterium*.

Почти все подгруппы энтеробактерий в качестве единственного внутриклеточного органического запасного вещества синтезируют гликоген. Поли- β -оксимасляную кислоту синтезируют только морские бактерии родов *Beneckea* и *Photobacterium*, да и то не все виды. Бактерии родов *Beneckea* и *Photobacterium* легко отличить от всех других бактерий кишечной группы по их потребностям в солях. Истинным морским бактериям совершенно необходимы ионы натрия — без них культуры не растут. Эта потребность в количественном отношении довольно высока: для обеспечения максимальной скорости роста требуется от 100 до 300 мМ Na^+ . У большинства не морских бактерий, за исключением экстремальных галофилов, специфическая потребность в Na^+ отсутствует. Для морских бактерий требуются также гораздо более высокие концентрации таких необходимых минеральных факторов, как Mg^{2+} и Ca^{2+} . По всем этим признакам представители родов *Beneckea* и *Photobacterium* являются типичными морскими бактериями: они не могут расти в средах с низкими концентрациями Na^+ , Mg^{2+} и Ca^{2+} , достаточными для поддержания максимальных скоростей роста других энтеробактерий.

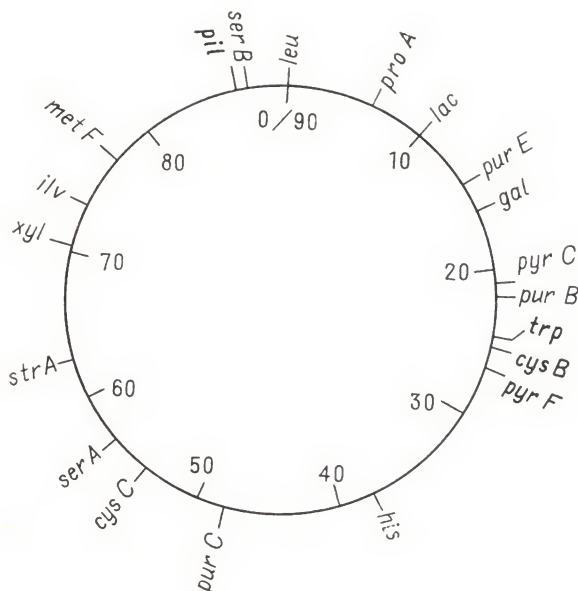
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РОДСТВО
МЕЖДУ ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ

Открытие явления переноса генов у энтеробактерий при конъюгации и трансдукции позволило довольно детально исследовать генетические родственные отношения между некоторыми ее представителями. Образование хромосомных гибридов между *E. coli* и бактериями родов *Salmonella* и *Shigella* говорит об очень высокой степени генетической гомологии данных бактерий, что подтверждает и сравнение хромосомных карт двух наиболее изученных в этом отношении видов — *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Как видно из рис. 20.3 и 20.4, где представлены в упрощенном виде

Рис. 20.3. Генетическая карта *E. coli* K12 в упрощенном виде. Сравните ее с аналогичной картой *Salmonella typhimurium*, представленной на рис. 20.4, и с более полной генетической картой *E. coli* на рис. 15.14. Числа внутри круга — это время в минутах, необходимое для передачи соответствующего участка хромосомы в процессе конъюгации при 37° (гл. 15). Идентифицированные и картированные генетиче-

ские локусы обозначены 3- или 4-буквенными символами. У штамма K12 *E. coli* картировано более 200 локусов и почти столько же у *Salmonella typhimurium*; из них примерно 100 локусов выполняют у этих двух видов одну и ту же функцию и почти все занимают на картах двух организмов одинаковое место, но есть и исключение. Например, локус, ответственный за образование пилей (*pil*), у *E. coli* находится на 88 мин,

а у *Salmonella typhimurium* — на 23 мин. У *E. coli* имеются гены, обеспечивающие усвоение лактозы (*lac*), локализованные на 10 мин, а у *S. typhimurium* эти гены отсутствуют. Наконец, участок хромосомы *trp-cys B-pyr F*, расположенный на 25 мин хромосомы *E. coli*, у *S. typhimurium* имеет противоположную ориентацию. [Taylor A., Trotter C., Linkage map of *Escherichia coli* strain K-12, Bact. Rev., 36, 504 (1972); с изменениями.]

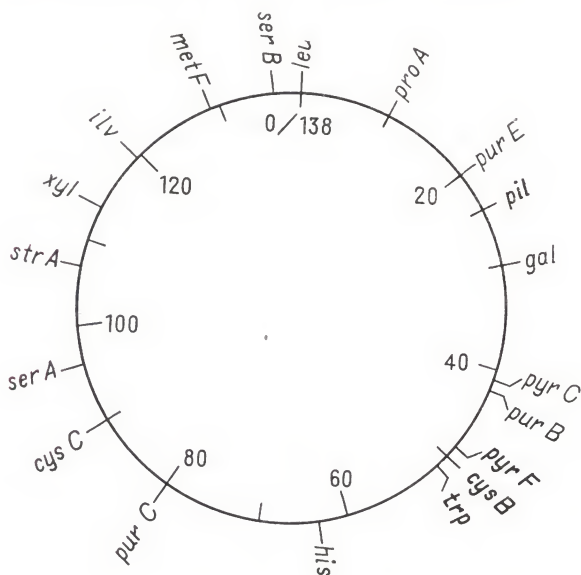


хромосомные карты этих двух организмов, многие маркеры располагаются на обеих хромосомах в одних и тех же локусах. О близком генетическом родстве групп *Escherichia*, *Salmonella* и *Shigella* свидетельствует также высокая степень ДНК-ДНК-гибридизации *in vitro*. Образование же хромосомных гибридов между бактериями этой подгруппы и представителями других родов энтеробактерий (*Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*) происходит очень редко. Кроме того, опыты по гибридизации ДНК-ДНК указывают, что степень генетической гомологии между представителями подгруппы *Escherichia* — *Salmonella* — *Shigella* и другими группами энтеробактерий довольно низка. Энтеробактерии, принадлежащие

Рис. 20.4. Генетическая карта *S. typhimurium* в упрощенном виде. Сравните ее с аналогичной генетической картой *E. coli* K12, представленной на рис. 20.3. Сходство и различие между картами указаны в подписи к рис. 20.3. В обоих слу-

чаях единицей длины служит время, необходимое для передачи соответствующего участка хромосомы в процессе конъюгации при 37 °C. Разница в полной «длине» хромосом (90 мин по сравнению со 134 мин), по-видимому, отражает

различие не в длинах хромосом как таковых, а в скоростях их передачи или методах измерения. [Sanderson K., Linkage map of *Salmonella typhimurium* Edition IV, Bact. Rev., 36, 558 (1972); с изменениями.]



к разным родам, могут получать плазмиды от донорных штаммов *E. coli* при конъюгации и затем сохранять их как внехромосомные элементы (правда, эффективность конъюгации варьирует в широких пределах; см. табл. 15.2). Таким способом среди бактерий кишечной группы могут распространяться F-факторы, содержащие дополнительные гены (на-

ТАБЛИЦА 20.4

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ О РОДСТВЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И РОДСТВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ¹

1. Бактерии, между которыми образуются хромосомные гибриды

Генетические доноры

Генетические реципиенты

Escherichia coli

{ Многие штаммы *E. coli*
Shigella flexneri и другие виды
Salmonella typhimurium, *S. typhi*

Salmonella typhimurium

Salmonella typhi, другие виды
Salmonella

Shigella flexneri

Escherichia coli, *Salmonella typhi*

II. Бактерии, между которыми возможна передача эписом

- А. F-факторы *E. coli*, содержащие дополнительные гены (например, F-lac)
Salmonella spp.; *Shigella* spp.; *Serratia marcescens*; *Proteus* spp.; группа *Enterobacter* — *Klebsiella*; *Vibrio cholerae*; *Yersinia pestis*
- Б. Факторы устойчивости к лекарственным препаратам (R-факторы)
Escherichia coli; *Shigella* spp.; *Salmonella* spp.; *Serratia marcescens*; группа *Enterobacter* — *Klebsiella*; *Proteus* spp.; *Vibrio cholerae*; *Yersinia pestis*; *Aeromonas hydrophila*

¹ Данные любезно представлены Д. Бреннером, Р. Читарелла и С. Фэлкоу.

пример, F-lac), и R-факторы, определяющие устойчивость к различным лекарственным препаратам (табл. 20.4).

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Упрощенная схема подразделения энтеробактерий представлена в табл. 20.5 и 20.6. Предварительное подразделение можно провести на основании характера жгутикования и оксидазной реакции. Оксидазоотрицательные подгруппы, в которых у подвижных форм жгутики расположены только перитрихально, включают в себя классических представителей Enterobacteriaceae и *Yersinia*. Как показано в табл. 20.5, используя данные по нуклеотидному составу ДНК, а также небольшое число биохимических и физиологических признаков, можно выделить четыре основные подгруппы (I—IV). Следует отметить, что специалисты, занимающиеся таксономией Enterobacteriaceae, выделили среди этих организмов очень большое число родов, различающихся чаще всего столь незначительными фенотипическими признаками, что систематики других бактерий использовали бы их в лучшем случае для различения видов. Это можно проиллюстрировать несколькими примерами. Так, в свете выявленного сейчас тесного генетического родства между *Escherichia*, *Salmonella* и *Shigella* выделение их в три отдельных рода, проведенное исключительно на основании патогенности, нельзя считать обоснованным. Некоторые представители рассматриваемого комплекса были выделены в дополнительные роды (*Arizona*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*). Различия между *Enterobacter* и *Serratia* также не дают основания для деления на роды, и тем не менее для бактерий, весьма сходных с *Enterobacter* (*Klebsiella*, *Hafnia*), были предложены еще два рода. Наконец, род *Erwinia* объединяет бактерии исключительно на основании сомнительного признака патогенности для растений. Этот род внутренне гетерогенен, и некоторые включаемые в него виды напоминают бактерии группы *Enterobacter* — *Serratia*. *Erwinia amylovora*, однако, явно от них отличаются. Вторая основная группа энтеробактерий образована организмами с полярным и полярно-перитрихальным жгутикованием.

ТАБЛИЦА 20.5

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ С ПЕРИТРИХАЛЬНЫМ ЖУГЛИКОВАНИЕМ И РОДСТВЕННЫХ ИМ НЕПОДВИЖНЫХ ФОРМ¹

Основные подгруппы	ГЦ-содержание ДНК, %	Подвижность	Образование			Роды, входящие в подгруппы	Другие родовые названия, часто применяемые к некоторым представителям
			бутандиола	уреазы	триптофан-дезаминазы		
I	50—53	± ²	—	—	—	<i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	<i>Arisona</i> и <i>Citrobacter</i> для «промежуточных» форм
II	50—59	±	+	—	—	<i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Erwinia</i>	<i>Klebsiella</i> и <i>Hafnia</i>
III	37—50	+	—	+	+	<i>Proteus</i>	<i>Providencia</i>
IV	46—47	±	—	+	—	<i>Yersinia</i>	Ранее помещались в род <i>Pasteurella</i>

¹ Прямые палочки, неподвижные или перемещающиеся с помощью перитрихально расположенных жгутиков; оксидазоотрицательные.² Знак «±» означает, что данный признак в пределах подгруппы варьирует.

ТАБЛИЦА 20.6

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ С ПОЛЯРНЫМ ЖУГЛИКОВАНИЕМ¹

Род	ГЦ-содержание ДНК, %	Поларно расположенные жгутики, заключенные в чехол	Образование поли-3-оксимасляной кислоты	Биологическая инертность	Потребность в Na ⁺	Характер брожения	
						образование бутандиола	образование H ₂ + CO ₂
<i>Aeromonas</i>	57—63	—	—	—	—	±	±
<i>Vibrio</i>	45—49	+	—	—	—	—	—
<i>Beneckea</i>	45—47	+	± ²	±	+	±	—
<i>Photobacterium</i>	39—43	—	+	+	+	±	±

¹ Прямые или изогнутые палочки, перемещающиеся с помощью полярно расположенных жгутиков; для некоторых форм свойствен смешанный полярно-перитрихальный характер жгутикования; в основном оксидазоотрицательные.² Знак «±» означает, что данный признак в пределах подгруппы варьирует.

Все эти бактерии, за редким исключением, оксидазоположительны (табл. 20.6). Подразделение внутри группы основывается на потребности в ионах, которая позволяет отличить *Benetckea* — *Photobacterium* от *Vibrio* — *Aeromonas*. Важным признаком второй группы энтеробактерий является структура жгутиков: полярно расположенные жгутики *Vibrio* и *Benetckea* относительно толстые и заключены в чехол, образующий выпячивание клеточной мембраны. Полярно расположенные жгутики *Aeromonas* и *Photobacterium* не имеют чехлов.

ПОДГРУППА I:
ESHERICHIA—*SALMONELLA*—*SHIGELLA*

Все представители этой подгруппы обитают в кишечном тракте человека и других позвоночных. Их основные родовые особенности представлены в табл. 20.7. Следует отметить, что некоторые штаммы кишечного происхождения, входящие в группу так называемых *параколибактерий*, по своим признакам занимают промежуточное положение между родами, перечисленными в табл. 20.7. Различия между ними не

ТАБЛИЦА 20.7
ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ОСНОВНЫХ РОДОВ ПОДГРУППЫ I

Признак	<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>
Патогенность для человека и животных	—	± ¹	+
Подвижность	±	+	—
Образование CO ₂ и +H ₂ за счет сбраживания глюкозы	+	+ ²	—
Сбраживание лактозы	+	—	—
Наличие β-галактозидазы	+	—	±
Использование цитрата в качестве источника углерода	—	+	—
Образование индола из триптофана	+	—	±

¹ «Знак «±» означает, что данный признак в пределах подгруппы варьирует.

² За исключением *S. typhosa*.

всегда имеют такой четкий характер, как это следует из таблицы. Для промежуточных форм группы *параколибактерий* были созданы дополнительные роды *Arizona* и *Citrobacter*, но на самом деле это никак не способствует правильной дифференциации.

Детальное подразделение видов в подгруппе I проведено на основании иммунологического анализа структуры поверхности клеток. Чрезвычайная специфичность взаимодействия антитела с антигеном позволяет обнаружить различия антигенных свойств разных штаммов одного вида, не различимых

по другим фенотипическим критериям. У бактерий подгруппы I тщательно исследованы три класса поверхностных антигенов: О-антигены, которые являются полисахаридными компонентами липополисахаридов наружной поверхности клеточной стенки, К-антигены, являющиеся полисахаридами капсулы, и Н-антигены, которые являются белками жгутиков. Многие из исследованных организмов обладают двумя наборами генетических детерминант для разных жгутиковых антигенов; для этих детерминант характерно разное фенотипическое выражение — явление, известное под названием *смены фаз*. В каждой данной клетке жгутики имеют один определенный антигенный тип, но при делении клетки с некоторой вероятностью образуются варианты другого типа. Таким образом, культуры бифазных штаммов содержат два специфических набора Н-антигенов.

Детальный анализ О- и Н-антигенной структуры (включая фазовую вариацию Н-антигенов) бактерий рода *Salmonella* позволил различить много сотен разных *серотипов*. Аналогичный анализ для *Escherichia* и *Salmonella* проведен менее детально. Эта система классификации антигенов имеет скорее не таксономическое, а эпидемиологическое значение. Серотип патогенного штамма *Salmonella* является маркером, по которому его можно идентифицировать и затем проследить пути его передачи в отсутствие других фенотипических признаков.

Escherichia coli и некоторые представители группы параколибактерий входят в состав нормальной кишечной флоры и вызывают заболевания лишь в исключительных случаях. Роды *Salmonella* и *Shigella* включают патогены, вызывающие разнообразные кишечные заболевания у человека и животных. Во всех случаях заражение происходит через рот, а первичным очагом инфекции является тонкая кишка, хотя некоторые из этих патогенов могут затем проникать и в другие органы, вызывая более общие поражения организма. Бактерии рода *Shigella* являются агентами кишечного заболевания, специфичного для человека, — бактериальной дизентерии. У рода *Salmonella* спектр хозяев и разнообразие вызываемых болезней гораздо шире. *Salmonella typhi* и *S. paratyphi*, возбудители брюшного тифа, патогенны только для человека, тогда как некоторые другие виды, например *S. typhimurium*, являются специфическими патогенами других млекопитающих или птиц. Большинство представителей группы *Salmonella* имеют, однако, низкую специфичность в отношении хозяев. Они часто присутствуют в кишечнике или других органах животных и птиц, не вызывая заболевания. Попадая в пищевые продукты и размножаясь в них, эти формы, однако, могут вызывать пищевые отравления у человека. Такие отравления можно рассматривать как желудочно-кишечные инфекции (пищевые токсикоинфекции), которые обычно бы-

вают острыми, но преходящими, хотя в некоторых случаях они могут быть и более затяжными. Пищевые токсиконфекции нередко носят характер эпидемических вспышек, поскольку приготовление пищи для больших контингентов людей создает благоприятные условия для размножения этих организмов.

ПОДГРУППА II:

ENTEROBACTER—SERRATIA—ERWINIA

Типичный представитель этой подгруппы *Enterobacter aerogenes* часто встречается в почве и воде, а иногда и в кишечном тракте. Похожие бактерии, отличающиеся от *E. aerogenes* своей неспособностью к движению и наличием капсулы, встречаются в дыхательных путях. Хотя их принято относить к особому роду *Klebsiella*, обоснованность такого выделения (тем более родового) весьма сомнительна. Биохимическим свойством, отличающим некоторые штаммы *Klebsiella* от других энтеробактерий, является их способность фиксировать азот. Это свойство может проявляться только в анаэробных условиях, так как в присутствии кислорода нитрогеназа в клетках быстро инактивируется. Хотя другие энтеробактерии в норме не обладают нитрогеназой, определяющие ее синтез *nif*-гены недавно были перенесены из *K. aerogenes* в *E. coli*, где они фенотипически выразились. Эти опыты были проведены с использованием трансдуцирующего фага P1.

Serratia marcescens, также обычный почвенный и водный организм, отличается от *Enterobacter* в основном своей не-

ТАБЛИЦА 20.8

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ОСНОВНЫХ РОДОВ ПОДГРУППЫ II

Признак	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Erwinia</i>
Подвижность	± ¹	+	+
Образование CO ₂ и H ₂ за счет сбраживания глюкозы	+	—	—
Сбраживание лактозы	+	—(+)²	+
Наличие β-галактозидазы	+	+	±
Разжижение желатина	—	+	+(—)³
Образование пектинолитических ферментов	—	—	±
Наличие внутриклеточных желтых пигментов	—	—	±
Наличие красных пигментов	—	+(—)	—
Патогенность или паразитизм в отношении растений	—	—	+

¹ Знак «±» означает, что данный признак в пределах рода варьирует.

² — (+) означает, что штаммы в основном негативные, позитивные встречаются редко.

³ + (—) означает, что штаммы в основном позитивные, негативные встречаются редко.

способностью синтезировать формиатгидрогенлиазу (при сбраживании сахаров газ практически не образуется) и почти полной неспособностью сбраживать лактозу (табл. 20.8). Многие (но отнюдь не все) штаммы *Serratia* синтезируют характерный красный клеточный пигмент *продигиозин*, производное трипиррола (рис. 20.5).

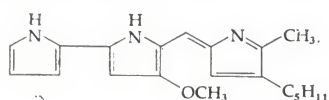


Рис. 20.5. Структурная формула продигиозина, красного пигмента, образуемого *Serratia*.

По сравнению с рассмотренными выше энтеробактериями представители рода *Erwinia* образуют очень гетерогенную группу, в которой сейчас различают три основные подгруппы; характерными представителями этих подгрупп являются *Erwinia amylovora*, *E. carotovora* и *E. herbicola*.

E. herbicola является возбудителем ожога, некротического заболевания груш и родственных плодовых деревьев. Этот вид замечателен тем, что использует весьма ограниченный набор сахаров и нуждается в органических факторах роста, что не свойственно другим бактериям рода *Erwinia*. *Erwinia carotovora* вызывает мягкую гниль запасующих тканей многих растений; отчасти это можно связать с ее способностью синтезировать пектолитические ферменты, которые разрушают пектиновые вещества, служащие в тканях растений внутриклеточным цементирующим материалом. *E. herbicola*, образующая желтые клеточные пигменты, обычно обитает на поверхности листьев здоровых растений; некоторые штаммы патогенны для растений. Сходные пигментированные энтеробактерии изредка выделялись от людей, но их патогенность для человека пока не доказана.

ПОДГРУППА III: *PROTEUS*

Бактерии подгруппы *Proteus* обычно обитают в почве, но в весьма значительных количествах они встречаются также в разлагающихся материалах животного происхождения. От бактерий до сих пор рассмотренных групп большинство видов *Proteus* отличается низким ГЦ-содержанием ДНК, а также некоторыми физиологическими свойствами. К ним относится сильная протеолитическая активность (быстрое разжижение желатина) и способность гидролизовать мочевину. Большинство представителей подгруппы *Proteus* очень подвижны и быстро распространяются по влажной поверхности агара. Интересная особенность процесса состоит в его периодичности: он протекает последовательными волнами, чередующимися с периодами неподвижности и роста. Это дает характерную зональную картину развития *Proteus* на агаре (рис. 20.6).

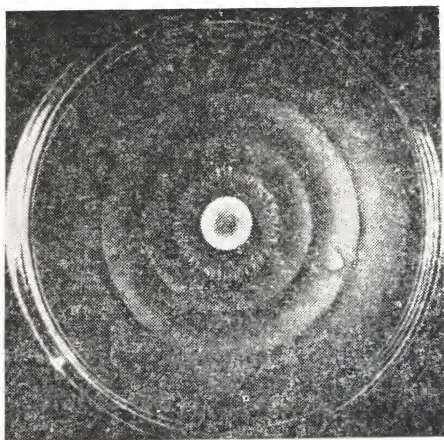


Рис. 20.6. Распространение *Proteus* по поверхности питательного агара. В центре чашки нанесена капля бактериальной суспензии; фотография сделана после 20-часовой инкубации при 37°C. [Jones Н. Е., Park R. W. A., The influence of medium composition on the growth and swarming of *Proteus*, J. Gen. Microbiol., 47, 369 (1967).]

ПОДГРУППА IV: *YERSINIA*

Род *Yersinia* включает в себя два или три вида, которые являются возбудителями заболеваний у грызунов. *Yersinia pestis* может передаваться блохами от обычных хозяев-грызунов к человеку, вызывая бубонную чуму — заболевание с очень высокой смертностью; массовые эпидемии чумы не раз возникали в истории человечества. Среди людей это заболевание может распространяться также через дыхательные пути. И по характеру передачи, и по симптомам заболевания, вызываемые видами *Yersinia*, в корне отличаются от основных кишечных заболеваний, таких, как дизентерия и брюшной тиф.

Бактерии рода *Yersinia* осуществляют кислотное брожение смешанного типа без образования H_2 и CO_2 . В этом отношении они напоминают бактерий рода *Shigella*. Они образуют β -галактозидазу и высокоэффективную уреазу. Способность к движению характерна не для всех членов рода; так, *Y. pestis* постоянно неподвижна. ГЦ-содержание ДНК у *Yersinia* существенно ниже, чем у членов подгруппы *Escherichia* — *Salmonella* — *Shigella*. Признаком, отличающим их от сем. Enterobacteriaceae, является относительно медленный рост на сложных средах.

БАКТЕРИИ С ПОЛЯРНЫМ ЖГУТИКОВАНИЕМ: *AEROMONAS*—*VIBRIO*—*PHOTOBACTERIUM*— *BENECKEA*

Факультативные анаэробы с полярным жгутикованием исследовались гораздо менее интенсивно и систематично, чем Enterobacteriaceae, и их классификация до сих пор остается весьма неопределенной. Предварительно можно выделить четыре подгруппы (табл. 20.6).

Род *Aeromonas* включает организмы, которые различаются по характеру сбраживания сахаров. *Aeromonas hydrophila* осуществляет бутандиоловое брожение, сопровождаемое образованием H_2 и CO_2 и сходное с брожением у *Aerobacter*. Для *Aeromonas punctata* и *A. shigelloides* характерно кислотное брожение смешанного типа без образования газа; оно сходно с брожением у *Shigella*. *Aeromonas shigelloides* близки к бактериям рода *Shigella* и по нуклеотидному составу ДНК; выявлено также наличие некоторых общих с этой подгруппой энтеробактерий соматических антигенов. Ряд авторов выделяют этот вид в отдельный род *Plesiomonas*.

Aeromonas hydrophila и *A. punctata* широко распространены в пресных водах; первый вид способен вызывать заболевания у лягушек и рыб. *A. shigelloides*, по-видимому, является обитателем кишечного тракта; считается, что он вызывает гастроэнтериты у человека.

Границы рода *Vibrio* четко не определены. Некоторые морские виды, относимые сейчас к родам *Beneckea* и *Photobacterium*, включались ранее в род *Vibrio* главным образом на основании изогнутой формы клеток, однако таксономическое значение этого структурного признака становится все более сомнительным. Если исключить морские бактерии, то род *Vibrio* сужается всего до одного вида — *Vibrio cholerae*, передаваемого через воду патогена, который вызывает желудочно-кишечное заболевание, известное под названием холеры.

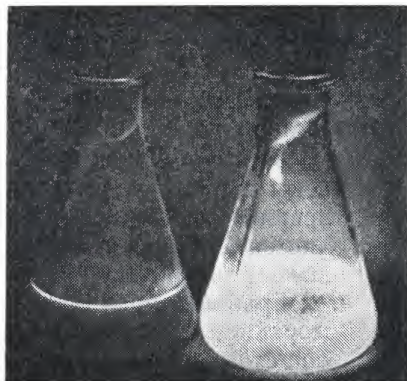
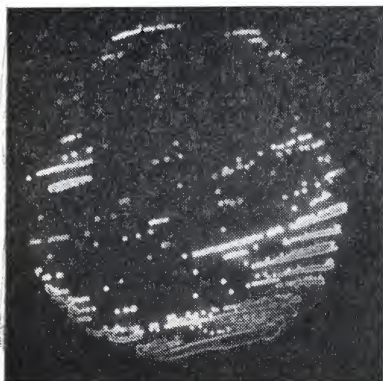
Бактерии родов *Beneckea* и *Photobacterium* являются одними из наиболее распространенных хемогетеротрофных обитателей морской среды. Они встречаются в морской воде, кишечном тракте и на поверхности тела морских животных. Многие из этих бактерий могут разрушать хитин и альгиновую кислоту. *Beneckea parahemolytica* часто вызывает гастроэнтериты у людей в Японии, где широко потребляется в пищу сырая рыба. Способность к биOLUMИнесценции (рис. 20.7), присущая всем представителям рода *Photobacterium*, наблюдается также у одного вида *Beneckea*. Светящиеся бактерии испускают синезеленый свет в довольно узком диапазоне длин волн с максимумом около 490 нм. В присутствии кислорода клетки светятся непрерывно. Как показано на рис. 20.7, неаэрируемая суспензия клеток, быстро перестает светиться в результате истощения кислорода вследствие дыхания бактерий. Поэтому излучение света суспензией светящихся бактерий является одним из наиболее чувствительных методов обнаружения следовых количеств кислорода.

Излучение света можно наблюдать и в бесклеточных экстрактах светящихся бактерий. Биохимические исследования установили природу ответственной за это реакции. Она осу-

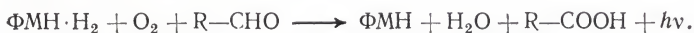
Рис. 20.7. Светящиеся бактерии, сфотографированные в свете их собственной люминесценции. Слева — чашка со штриховым посевом *Photobacterium phosphoreum*,

справа — две колбы, содержащие суспензию этих же бактерий в среде с сахаром. Через колбу, расположенную справа, во время экспозиции постоянно продувался

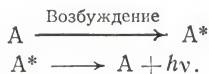
воздух. В неаэрируемой колбе слева бактерии израсходовали растворенный кислород и люминесцируют только на поверхности, где имеется кислород.



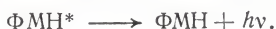
шествуется с участием фермента люциферазы, которая является многофункциональной оксидазой. В реакции, сопровождающейся излучением света, участвуют три субстрата: восстановленный флавиномононуклеотид ($\text{FMN} \cdot \text{H}_2$), молекулярный кислород и насыщенный альдегид с длинной цепью, содержащий более 8 атомов углерода ($\text{R}-\text{CHO}$). Суммарную реакцию, катализируемую люциферазой, можно записать в следующем виде:



Изучение химических модельных систем, в которых воздействием на простые органические молекулы можно вызвать их свечение (хемилюминесценция), показывает, что излучающая свет молекула A должна сначала перейти в электронно-возбужденное состояние A^* . Часть энергии возбуждения излучается в виде света ($h\nu$) с возвращением молекулы в основное состояние:



Аналогичное событие происходит, по-видимому, и во время реакции, катализируемой люциферазой; считается, что непосредственным продуктом окисления $\text{FMN} \cdot \text{H}_2$ является флавиномононуклеотид FMN^* , находящийся в электронно-возбужденном состоянии. Излучение света происходит в результате возвращения FMN^* в основное состояние



Светящиеся бактерии широко распространены в океанах. Они часто живут в высокоспециализированных симбиотических ассоциациях с определенными рыбами и головоногими моллюсками. Животные-хозяева светящихся бактерий обладают специальными органами, которые представляют собой впячивания на поверхности тела, напоминающие карман. Каждый такой орган содержит плотную ярко светящуюся популяцию бактерий. Одна из подобных ассоциаций подробно рассматривается в гл. 28.

ZYMONONAS

Бактерии рода *Zytononas* — грамотрицательные палочки с полярно расположенными жгутиками — встречаются в гниющих растительных материалах. Подобно энтеробактериям, они являются факультативными анаэробами, способными осуществлять и дыхание, и брожение. Однако характер сбраживания

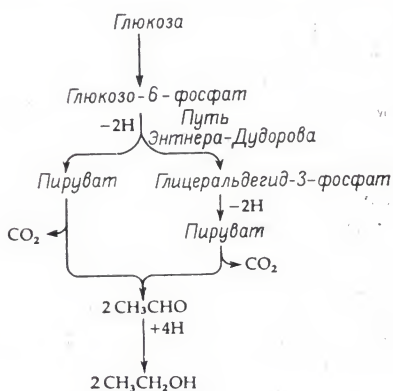


Рис. 20.8. Путь сбраживания глюкозы у *Zytononas*.

ния сахаров у *Zytononas* совершенно особый, четко отличающий их от энтеробактерий. Сбраживаются только глюкоза, фруктоза и сахароза, которые превращаются в эквимольные количества этанола и CO_2 (рис. 20.8). Как и у дрожжей, пировиноградная кислота у *Zytononas* декарбоксилируется неокислительным путем с образованием ацетальдегида, восстанавливаемого затем до этанола. Превращение глюкозы в пировиноградную кислоту происходит, однако, не по пути Эмбдена — Мейергофа, а по пути Энтера — Дудорова.

КОЛИФОРМНЫЕ БАКТЕРИИ В САНИТАРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Кишечные заболевания, вызываемые колиформными бактериями, передаются почти исключительно через воду и пищевые продукты, содержащие фекальные загрязнения. Самым опасным источником инфекции безусловно является загрязненная питьевая вода; именно это послужило причиной мас-

совых эпидемий наиболее серьезных кишечных заболеваний (особенно брюшного тифа и холеры), которые вплоть до начала нашего века периодически возникали в самых разных районах земного шара. На Западе эти заболевания сейчас почти не встречаются, хотя недавно холера снова появилась в странах Средиземноморья. Искоренить эти болезни удалось в основном за счет соответствующих санитарных мер. Существенной частью этой операции была разработка бактериологических методов установления фактов загрязнения фекальными массами воды и пищевых продуктов.

Выделять кишечных патогенов непосредственно из загрязненной воды удается очень редко, так как обычно они присутствуют там в незначительных количествах, за исключением тех случаев, когда загрязнение от больного произошло недавно и было обильным. Чтобы обнаружить факт фекального загрязнения, достаточно показать, что исследуемый образец содержит бактерии, известные как специфические обитатели кишечного тракта, даже если они не являются возбудителями заболевания. Бактериями, чаще всего служащими индикаторами таких загрязнений, являются фекальные стрептококки, рассмотренные в гл. 23, и *E. coli*. Разработанные бактериологами методы санитарного анализа несколько различаются в разных странах.

Один из методов обнаружения *E. coli* состоит в посеве разведений исследуемого образца в пробирки с лактозным бульоном; пробирки инкубируют при 37° и через 1—2 дня проверяют на образование газа и кислоты. Культуры, в которых обнаруживают образование газа и кислоты, высевают штрихом на специальную среду для выявления колоний *E. coli*. Одна из наиболее часто используемых сред — агар с лактозой и пептоном, содержащий два красителя, эозин и метиленовый синий (ЭМС-агар). На этой среде *E. coli* образует темно-синие, с металлическим блеском колонии, тогда как другой основной представитель бактерий, способный сбраживать лактозу с образованием газа и кислоты, *Enterobacter aerogenes* (а присутствие этой бактерии не обязательно свидетельствует о фекальном загрязнении), дает бледно-розовые слизистые колонии без блеска (рис. 20.9). Для окончательной дифференциации этих двух микроорганизмов с материалом, полученным из выделенных колоний, можно провести серию физиологических тестов, известных как ИМФиЦ-тесты (см. табл. 20.9). Типичные результаты ИМФиЦ-тестов для этих двух видов приведены в табл. 20.9. Из четырех тестов наиболее показательна реакция с метиленовым красным и реакция Фогес — Проскауера, поскольку они дают косвенные указания на характер расщепления сахаров при брожении. Обе реакции проводятся с культурами, выросшими в среде с глюкозой и пептоном. Реакция с метиленовым красным позволяет измерить конечное значение рН среды: этот

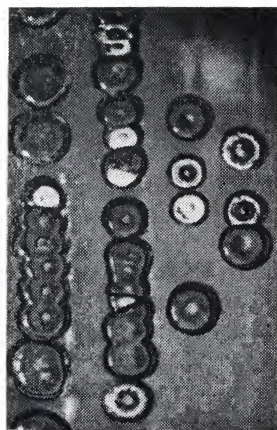


Рис. 20.9. Штриховой посев *Escherichia coli* и *Enterobacter aerogenes* на чашке с ЭМС-агаром. Колонии *E. coli* относительно невелики и выглядят светлыми из-за своего металлического блеска. (С любезного разрешения Н. Паллерони.)

индикатор имеет желтый цвет при pH от 4,5 и выше и красный — при более низких pH. Поэтому положительная реакция (красная окраска) свидетельствует об образовании значительных количеств кислоты, что характерно для кислотного брожения смешанного типа.

Реакция Фогес — Проскауера является цветной реакцией на ацетон — промежуточное соединение при образовании бутандиола из пировиноградной кислоты. Положительная реакция свидетельствует о наличии бутандиолового брожения. Реакция на образование индола из триптофана, прово-

ТАБЛИЦА 20.9

ИМФиЦ-тест ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ *ESCHERICHIA COLI* И *ENTEROBACTER AEROGENES*

	Типичные результаты			
	образова- ние индола	изменение цвета мети- ленового красного	реакция Фогес— Прос- кауера	исполь- зование цитрата
<i>Escherichia coli</i>	+	+	—	—
<i>Enterobacter aerogenes</i>	—	—	+	+

димая с культурой, выросшей на пептонной среде, богатой триптофаном, является тестом на наличие триптофаназы; этот фермент расщепляет триптофан до индола, пировиноградной кислоты и аммония и имеется у многих энтеробактерий и родственных форм, включая *E. coli*, но отсутствует у *E. aerogenes*. Тест на использование цитрата определяет способность культуры расти в синтетической среде, содержащей в качестве единственного источника углерода цитрат. Такой

способности лишены большинство штаммов *E. coli* из-за отсутствия цитратпермеазы.

Первая стадия аналитической методики, рассмотренной выше, относительно неспецифична, поскольку в бульоне с лактозой при 37° с образованием газов и кислот могут расти многие бактерии, совсем не обязательно входящие в сем. Enterobacteriaceae. Гораздо более специфичное обогащение пробы бактериями *E. coli* можно провести по методу Эйкмана, для чего используется бульон с глюкозой, инкубируемый при 44°С. Такое небольшое повышение температуры (44°С вместо 37°) полностью подавляет рост *Enterobacter aerogenes* и большинство других организмов, сбраживающих лактозу с образованием газа, и не мешает росту *E. coli*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Как ни удивительно, книги или исчерпывающие обзоры, которые давали бы достаточно полное представление о свойствах энтеробактерий, отсутствуют. Информацию об этих организмах можно, однако, получить, ознакомившись с одним из разделов восьмого издания *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Baltimore: Williams and Wilkins, 1974), посвященном их описанию (часть 8. Грамотрицательные факультативно анаэробные палочки). Специальную информацию о некоторых подгруппах кишечных бактерий дают приведенные ниже работы.

Обзоры и оригинальные работы

- Anderson E. S. (1968), The Ecology of Transferable Drug Resistance in the Enterobacteria, *Ann. Rev. Microbiol.*, **22**, 131.
Baumann P., Baumann L., Mandel M. (1971), Taxonomy of Marine Bacteria: The Genus *Beneckea*, *J. Bact.*, **107**, 268.
Brenner D. J. (1972), Deoxyribonucleic Acid Reassociation in the Taxonomy of Enteric Bacteria, *Int. J. Syst. Bact.*, **23**, 298.
Reichelt J. L., Baumann P. (1973), Taxonomy of the Marine, Luminous Bacteria, *Arch. Mikrobiol.*, **94**, 283.
Starr M. P., Chatterjee A. K. (1972), The Genus *Erwinia*: Enterobacteria Pathogenic to Plants and Animals, *Ann. Rev. Microbiol.*, **26**, 389.

21 ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ: МИКСОБАКТЕРИИ И ДРУГИЕ СКОЛЬЗЯЩИЕ ОРГАНИЗМЫ

Среди грамотрицательных хемогетеротрофов имеется несколько групп одноклеточных или нитчатых скользящих бактерий. Для перемещения посредством скольжения необходим контакт клетки с твердым субстратом. Скольжение значительно медленнее движения с помощью жгутиков; никаких специальных двигательных органелл, осуществляющих скольжение, не обнаружено. У одноклеточных скользящих бактерий поступательное перемещение часто сопровождается быстрыми сгибаниями и разгибаниями клеток. Отсюда можно было бы заключить, что клеточная стенка у них менее жесткая, чем у других грамотрицательных бактерий, однако никаких существенных различий между стенками у этих двух типов микроорганизмов (ни по ультраструктуре, ни по химическому составу) не выявлено. Стенка скользящих бактерий состоит из тонкого слоя внутреннего пептидогликана, химически сходного с пептигликанами других грамотрицательных бактерий, и наружного мембранного слоя.

МИКСОБАКТЕРИИ

Миксобактерии отличаются от других скользящих бактерий в двух отношениях: они имеют особый цикл развития, а их ДНК характеризуется высоким ГЦ-содержанием (от 67 до 71%).

Вегетативные клетки миксобактерий представляют собой мелкие палочки, которые размножаются путем поперечного деления на две клетки. На твердых субстратах эти организмы дают плоские распространяющиеся колонии с границами неправильной формы, на которых располагаются небольшие группы продвигающихся клеток (рис. 21.1). Мигрирующие клетки образуют плотный слизистый слой, лежащий в основании колонии и обеспечивающий ее связность. При благоприятных условиях в нескольких внутренних участках колонии вегетативные клетки агрегируют, и из этих клеточных агрегатов развиваются плодовые тела. Каждое плодовое тело состоит из слизи и бактериальных клеток. При созревании оно приобретает определенную форму, размер и цвет. Пигменты бактерий являются каротиноидами, связанными с клетками. При созревании плодовых тел вегетативные клетки превращаются в покоящиеся, известные под названием *миксоспор*. При последующем прорастании каждая миксоспора дает начало вегетативной палочке.

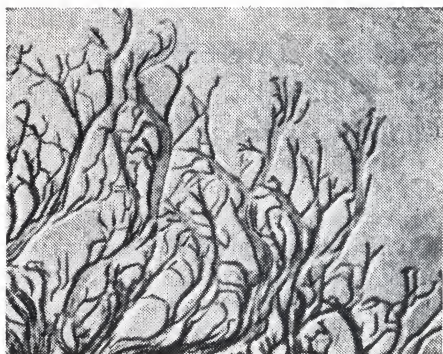


Рис. 21.1. Край зоны роста одного из видов *Sporangium* на агаре ($\times 19$). (С любезного разрешения М. Дворкина и Г. Рейхенбаха.)

Миксобактерии являются почвенными микроорганизмами. В естественных условиях их обычно обнаруживают при развитии плодовых тел на твердых субстратах — на коре деревьев, на разлагающихся остатках растений и особенно на экскрементах животных. Миксобактерии можно выделить из почвы с помощью нескольких специальных методов накопления. Наиболее эффективный из них состоит в том, что кусочки стерилизованных экскрементов помещают на поверхность (50—200 г) увлажненной почвы. На поверхности экскрементов происходит развитие миксобактерий, и через 1—3 нед образуются плодовые тела.

Миксобактерии являются облигатными аэробами; они плохо или вообще не растут на обычных сложных средах. По своим пищевым потребностям миксобактерии распадаются на две подгруппы: бактериолитических и целлюлозолитических организмов. Большинство видов относятся к бактериолитической группе и растут за счет бактерий и других микроорганизмов, как живых, так и мертвых. Живые клетки-хозяева убиваются антибиотиками, секретируемыми миксобактериями; химически эти вещества еще не охарактеризованы. Затем происходит лизис клеток-хозяев под действием внеклеточных ферментов. Среди них имеются протеазы, нуклеазы и липазы. Рост миксобактерий происходит за счет растворимых продуктов гидролиза. Наиболее благоприятным субстратом для развития миксобактерий являются экскременты, что в основном связано с высоким содержанием в них бактерий. Бактериолитические миксобактерии лучше всего культивировать на поверхности агара с нанесенным на него слоем густой суспензии клеток-хозяев. В жидких средах они растут, как правило, плохо. Минимальные пищевые потребности этих организмов изучены не очень хорошо, поскольку многие виды достаточно хорошо растут только за счет использования микробных клеток.

Наиболее легко культивируемые представители этой группы (*Myxococcus* spp.) могут расти в среде, содержащей

смесь аминокислот, которые служат для них источниками углерода, азота и энергии; углеводы ими не используются.

Несколько видов (все они относятся к роду *Polyangium*) обладают совершенно иными пищевыми потребностями: активно разлагают целлюлозу и растут в минеральных средах с целлюлозой или продуктами ее гидролиза (растворимыми сахарами целлобиозой и глюкозой).

Большинство миксобактерий (за исключением некоторых видов *Mucococcus* и разлагающих целлюлозу видов *Polyangium*) практически не образуют плодовых тел на средах, поддерживающих хороший вегетативный рост. Образованию плодовых тел обычно благоприятствует культивирование на средах, бедных питательными веществами, но природа специфических факторов, контролирующих этот процесс, неизвестна. Классификация миксобактерий основана главным образом на структуре их плодовых тел. Поэтому трудности, связанные с получением воспроизводимого образования плодовых тел, служат серьезной помехой для их идентификации.

ТАБЛИЦА 21.1

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ НЕКОТОРЫХ РОДОВ МИКСОБАКТЕРИЙ, ОБРАЗУЮЩИХ ПЛОДОВЫЕ ТЕЛА

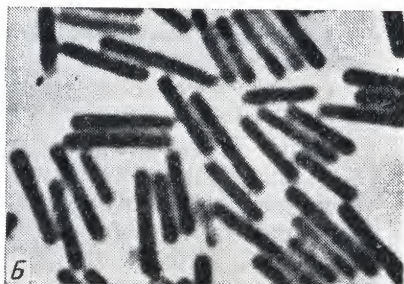
Род	Форма микоспоры	Структура плодового тела		Эрозия поверхности агара	Характер питания	
		микоспоры в цистах	цисты на плодonoжках		бактерио-литический	целлюлозо-литический
Группа I. Вегетативные клетки суживаются к концам, микоспоры преломляют свет						
<i>Myxococcus</i>	Сфера	—		±	+	—
<i>Cystobacter</i>	Палочка	+	—	—	+	—
<i>Melittangium</i>	Палочка	+	+, простая плодonoжка	—	+	—
<i>Stigmatella</i>	Палочка	+	+, разветвленная плодonoжка	—	+	—
Группа II. Диаметр вегетативных клеток постояен по всей длине; микоспоры не преломляют свет						
<i>Polyangium</i>	Палочка	+	—	+	+(некоторые)	+(некоторые)
<i>Chondromyces</i>	Палочка	+	+, разветвленная плодonoжка	+	+	—

Отличительные признаки некоторых основных родов миксобактерий приведены в табл. 21.1. Предварительное подразделение можно сделать на основании структуры вегетативных клеток и микоспор. У бактерий родов, отнесенных к группе I, вегетативные клетки сужаются к концам.

Рис. 21.2. Vegetативные клетки миксобактерий (×2050). А. *Myxococcus*

xanthus. Б. *Chondromyces crocatus*. Фазовый контраст, темное поле.

(С любезного разрешения Х. Мак-Курди.)



(рис. 21.2, А), а миксоспоры обладают значительно большей светопреломляющей способностью. У бактерий родов, отнесенных к группе II, вегетативные клетки имеют постоянный диаметр по всей длине и закругленные концы (рис. 21.2, Б), а миксоспоры не отличаются от вегетативных клеток ни по форме, ни по светопреломляющей способности. При росте на агаре представители группы II образуют колонии, которые эрозируют поверхность и проникают в глубь агара. Это, по-видимому, чисто физическое явление, не связанное с ферментативным разрушением агара. Представители группы I обычно агара не эрозируют.

Образование микоспор у рода *Myxococcus* сопровождается резкими морфологическими изменениями клеток: длинные тонкие вегетативные клетки укорачиваются и округляются, образуя сферические микоспоры, которые значительно сильнее преломляют свет, чем вегетативные клетки. Плодовые тела большинства видов этого рода представляют собой блестящие цветные капли, равномерно заполненные микоспорами.

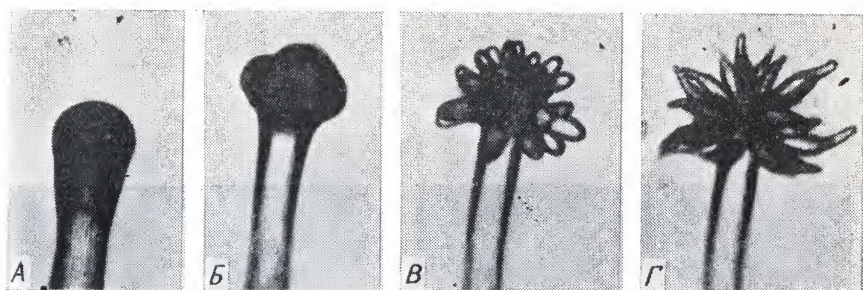
У *Cystobacter*, *Melittangium* и *Stigmatella* микоспоры представляют собой укороченные преломляющие свет палочки, развивающиеся внутри цисты, каждая из которых содержит большое число отдельных микоспор. Цисты *Cystobacter* лежат на поверхности субстрата и заключены в массу слизи. У *Melittangium* и *Stigmatella* цисты развиваются на верхушке бесцветной ножки, которая состоит в основном из отвердевшей слизи. У *Melittangium* ножка не имеет разветвлений и несет только одну цисту, у *Stigmatella* ножка разветвленная, со множеством цист.

Плодовые тела у *Polyangium* и *Chondromyces* сходны по форме с плодовыми телами *Cystobacter* и *Stigmatella* соответственно. Однако микоспоры внутри цист не преломляют света и под микроскопом не отличаются от вегетативных клеток.

Рис. 21.3. Последовательные стадии (А—Г) развития апикальной части плодового тела *Chondromyces apiculatus*.

Съемка велась в течение 4 ч при 27°C. [Кадры из фильма Е 779, Publ. wiss. Filmen, Sekt. biologie, 7, 245 (1974)]

Institut für den wissenschaftlichen Film, Göttingen. С любезного разрешения д-ра Г. Рейхенбаха.]

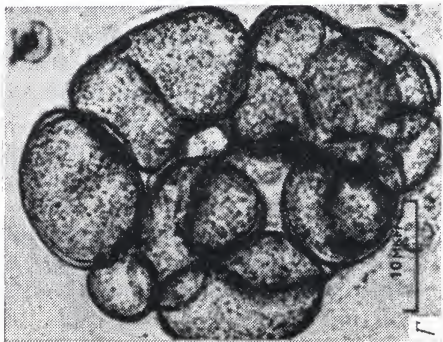
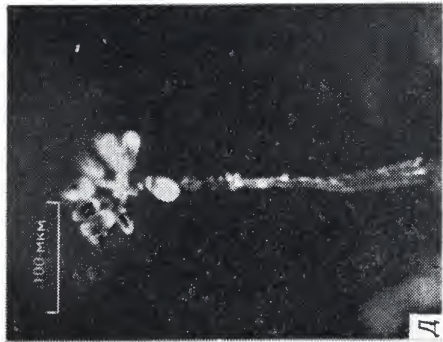
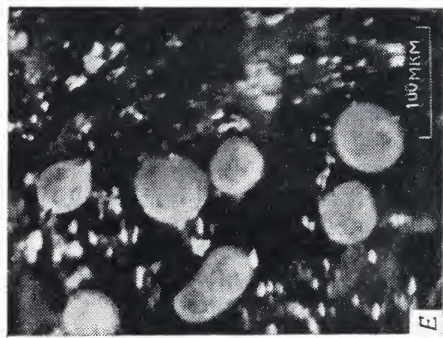
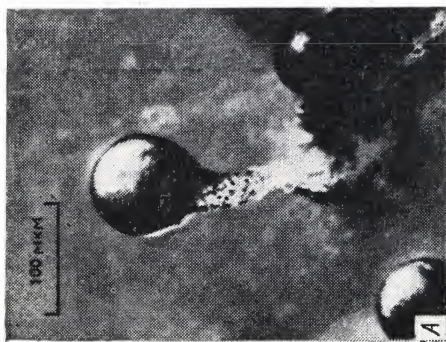
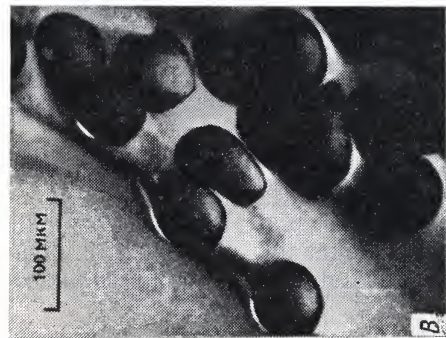


У *Stigmatella* и *Chondromyces* зрелое плодовое тело имеет древовидную форму с множеством цист на кончиках сильно разветвленной ножки. Последовательные стадии развития такого сложного плодового тела показаны на рис. 21.3. Разнообразие структур плодовых тел описанных родов иллюстрирует рис. 21.4.

Свойства микроспор исследованы в основном у представителей рода *Muxosoccus*. Микроспоры термостабильнее, чем вегетативные клетки, правда не намного. Зато они гораздо более устойчивы к высушиванию и в таком состоянии могут сохранять жизнеспособность месяцы и даже годы. Образование этих покоящихся структур в плодовых телах, возвышающихся над поверхностью субстрата, без сомнения способствует их рассеиванию в окружающей среде. У рода *Muxosoccus* микроспора является покоящейся структурой и одновременно единицей рассева. Однако у образующих цисты родов единицей рассева является не индивидуальная микроспора, а циста, содержащая множество микроспор. Это становится наиболее очевидным, если сравнить характер прорастания у представителей соответствующих родов. Плодовые тела большинства видов *Muxosoccus* распадаются. Каждая высвободившаяся при этом микроспора при благоприятных условиях может прорасти и за счет последующего роста образовать вегетативную колонию. У образующих цисты родов прорастание микроспор сопровождается разрывом стенки цисты с высвобождением сотен вегетативных клеток (рис. 21.5). Клетки сохраняют связь друг с другом и дают начало одной-единственной вегетативной колонии. Таким образом, прорастание цисты обеспечивает быстрое образование вегетативной популяции до начала деления клеток.

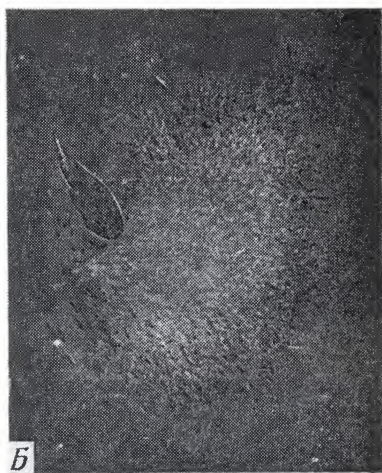
У *Muxosoccus* spp. образование микроспор из вегетативных клеток можно индуцировать искусственно без обычной предварительной агрегации и образования плодовых тел:

Рис. 21.4. Плодовые тела миксобактерий. А. *Melittangium lichenicolum* (×232). Б. *Stigmatella aurantiaca* (×318). В. *Cystobacter juscus* (×106). Г. *Polyangium* sp. (×573). Д. *Chondromyces pediculatus* (×94). Е. *Muxococcus xanthus* (×32). (А—Г — с любезного разрешения М. Дворкина и Г. Рейхенбаха, Д—Е — Х. МакКурди.)





А



Б



В

Рис. 21.5. Прорастание цист *Chondromyces apiculatus*. А. Зрелое плодовое тело с цистами ($\times 104$). Б. Прорастание отдельной цисты на поверхности агара. Видна большая популяция вегетативных клеток, высвобождающихся из оболочки микроспоры (фазовый контраст; $\times 120$). В. Пустая оболочка проросшей цисты (фазовый контраст; $\times 485$). (С любезного разрешения Г. Рейхенбаха.)

добавление к суспензии вегетативных клеток 0,5 М глицерина за 2 ч приводит к массовому превращению их в микроспоры; к такому же результату приводит голодание по некоторым аминокислотам (метионину или фенилаланину и тирозину).

АЛГИЦИДНЫЕ МИКСОБАКТЕРИИ, НЕ ОБРАЗУЮЩИЕ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ

Миксобактерии часто вызывают гибель естественных популяций зеленых водорослей и цианобактерий. У многих из таких алгицидных миксобактерий не наблюдалось образования плодовых тел, что обуславливает неопределенность их таксономического положения. По нуклеотидному составу (ГЦ-содержание ДНК лежит в пределах от 69 до 71%) эти организ-

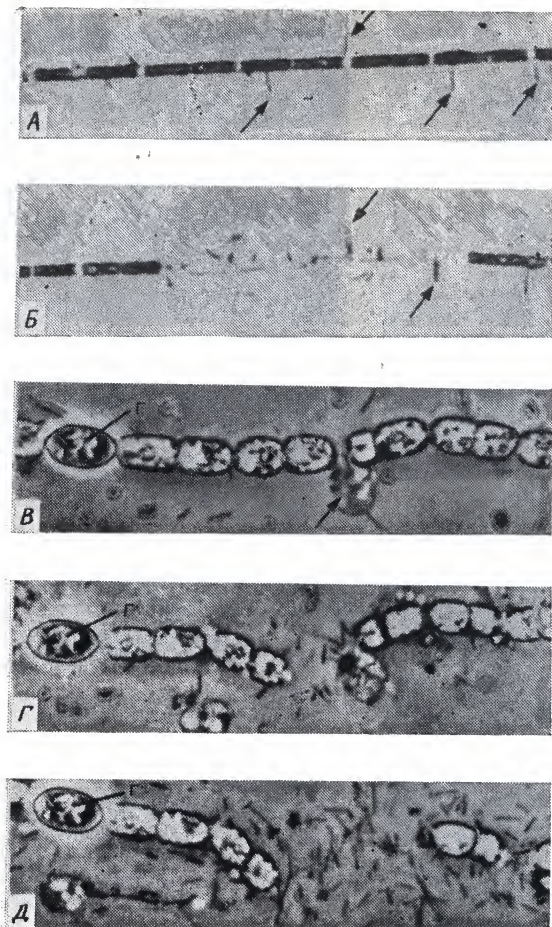


Рис. 21.6. Присоединение миксобактерий к нитям двух цианобактерий. А. Нить, образованная клетками *Oscillatoria redekei*, к которой в разных местах полярно присоединены клетки миксобактерий (стрелки). Б. Нить *O. redekei* после лизиса части составляющих ее клеток; миксобактерии по-прежнему присоединены к лизированным клеткам (стрелки). В, Г, Д. Последовательные стадии лизиса миксобактериями нити из клеток *Anabaena flosaquaе*. Эта цианобактерия содержит газовые вакуоли, благодаря чему вегетативные клетки в фазово-контрастном микроскопе выглядят яркими. Нить содержит гетероцисту (г), к которой миксобактерии не присоединяются. На фото В стрелка указывает на лизированную вегетативную клетку, разрушение которой вызвало разрыв нити. Все снимки получены при $\times 1260$. [Daft M. J., Stewart W. D. P., Light and electron microscope observation on algal lysis by bacterium CP-1, New Phytol., 72, 799 (1973).]

мы, однако, сходны с миксобактериями, образующими плодовые тела, поэтому к ним применяют неопределенное название *миксобактеры*. В противоположность бактериолитическим миксобактериям, образующим плодовые тела, миксобактеры отличаются простыми пищевыми потребностями: они хорошо растут в жидких средах определенного состава и могут использовать глюкозу и другие углеводы в качестве единственных источников углерода и азота.

Некоторые миксобактерии, убивающие цианобактерии, образуют внеклеточные ферменты, которые разрушают пептидогликановый слой клетки-хозяина. Среди литических ферментов имеется протеаза с очень низким мол. весом (8000 дальтон) и широкой субстратной специфичностью; она гидролизует пептидные связи пептидогликанов. Другие мик-

собактерии убивают цианобактерий только при непосредственном контакте (рис. 21.6); ферментативный механизм этого процесса неизвестен.

ГРУППА ЦИТОФАГ

Скользющие бактерии группы цитофаг не образуют плодовых тел и заметно отличаются от миксобактерий (включая не образующих плодовых тел миксобактеров) по нуклеотидному составу ДНК (30—50%). Клетки некоторых из этих бактерий образуют цепочки длиной в 100 мкм или более, что не свойственно миксобактериям. Другие цитофаги представляют собой единичные тонкие палочки и по структуре вегетативных клеток не отличимы от миксобактерий. Покоящиеся клетки образуются только у представителей рода *Sporocytophaga*, формирующих сферические преломляющие свет микроцисты, которые сходны по структуре и развитию с микоспорами *Мухососсис*. Таким образом, самым главным признаком для дифференциации представителей группы цитофаг и миксобактерий, особенно миксобактерий, не образующих плодовых тел, является нуклеотидный состав ДНК этих организмов. Основные роды группы цитофаг (табл. 21.2)

ТАБЛИЦА 21.2

ОСНОВНЫЕ РОДЫ ГРУППЫ ЦИТОФАГ

Род	Структура в вегетативной фазе	Образование микроцист	ГЦ-содержание ДНК, %	Рост за счет целлюлозы, хитина и агара
<i>Cytophaga</i>	Отдельные палочки	—	33—42	+
<i>Sporocytophaga</i>	Отдельные палочки	+	36	+
<i>Flexibacter</i>	Палочки, либо отдельные, либо образующие цепочки	—	31—43	—

различаются главным образом по их пищевым потребностям.

Cytophaga и *Sporocytophaga* spp. могут гидролизовать сложные полисахариды и расти за счет их использования, тогда как *Flexibacter* spp. полисахаридов не расщепляют. Большинство этих бактерий — облигатные аэробы, но некоторые виды *Cytophaga* и *Flexibacter* являются факультативными анаэробами и могут сбраживать углеводы. Основные продукты брожения — жирные кислоты и янтарная кислота. Для роста за счет брожения необходима углекислота в субстратных количествах.

Наиболее активными аэробными бактериями, расщепляющими целлюлозу в почве, являются определенные виды *Cytophaga* и *Sporocytophaga*. Обогащенную ими культуру легко получить, поместив образец почвы в минеральную среду с фильтровальной бумагой в качестве единственного источни-

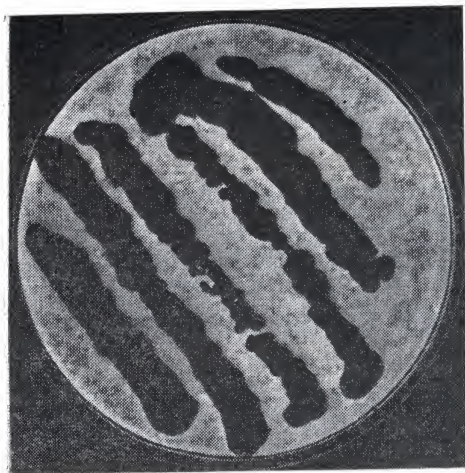


Рис. 21.7. Штриховой посев *Cytophaga* на чашку с агаром, покрытым фильтровальной бумагой. В местах посева фильтровальная бумага полностью растворилась.

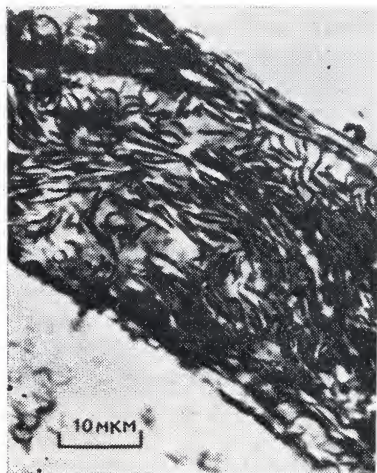


Рис. 21.8. Волокна целлюлозы после роста культуры *Cytophaga* (окрашенный препарат). Обратите внимание на характерное регулярное расположение клеток. (Winogradsky S., Microbiologie du Sol. Paris: Masson, 1949; с разрешения М. Мэниголта и издателя.)

ка углерода и энергии. При первичном выделении эти бактерии не способны расти ни на каком ином органическом субстрате; последующий отбор позволяет получить мутанты, растущие на растворимых сахарах — глюкозе и целлобиозе. Целлюлозолитическая активность этих организмов паразитична. При штриховом посеве на листке фильтровальной бумаги, помещенной на поверхности чашки с минеральным агаром, они полностью разрушают ее волокнистую структуру. В местах поражения появляются окрашенные слизистые пятна, образованные бактериальными клетками (рис. 21.7). Другим характерным свойством почвенных цитофаг, разрушающих целлюлозу, является необходимость их прямого

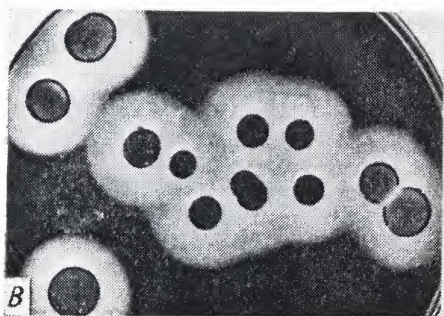
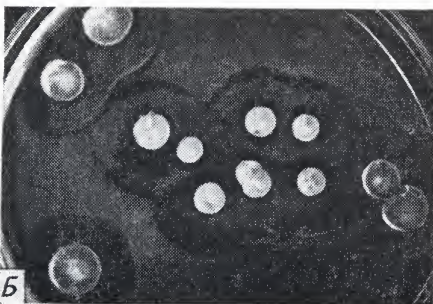
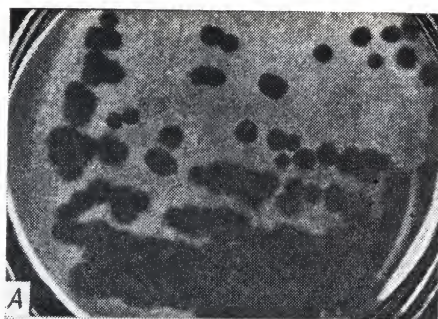


Рис. 21.9. Разложение хитина и агара представителями группы цитофаг. А. Культура *Cytophaga johnsonae* на агаровой среде, содержащей суспензию нерастворимого полисахарида хитина. В прозрачных участках под просвечивающими колониями хитин гидролизован внеклеточными ферментами. Б и В. Две фотографии культуры *Cytophaga fermentans*, растущей на сложной среде с 1% агара. Фото Б сделано в отраженном свете, чтобы были видны углубления в агаре, образующиеся вокруг колоний. На фото В чашка залита раствором I—KI; в месте разложения агара этот раствор обесцветился, что позволило определить размеры зон диффузии агаразы вокруг колоний. [А — с любезного разрешения Г. Вельдкамп, Б и В — из работы Veldkamp H., A study of two marine, agar-decomposing, facultatively anaerobic myxobacteria, J. Gen. Microbiol., 26, 331 (1961).]

контакта с субстратом, содержащим целлюлозу. Этот факт позволяет предположить, что первичное воздействие на целлюлозу осуществляется недиффундирующим экзоферментом, сохраняющим связь с поверхностью клетки. В результате в культуре, содержащей целлюлозу, клетки плотно прилипают к ее волокнам, часто очень упорядоченно: палочковидные клетки ориентируются параллельно фибриллам полисахарида (рис. 21.8).

Другие виды рода *Cytophaga* растут за счет использования полисахаридов — хитина и агара (рис. 21.9). Агар — это коммерческое название сложной смеси полигалактанов, которые являются структурными полимерами некоторых морских водорослей. На суше агар не встречается, поэтому агаролитические цитофаги — это организмы морского происхож-

дения, тогда как хитинолитические представители группы встречаются и в почве, и в морской воде.

Гидролиз хитина и агара осуществляется индуцируемыми внесклеточными ферментами, и, следовательно, прямого контакта клеток с субстратом не требуется. Хитинолитические и агаролитические цитофаги, кроме того, обладают гораздо менее специализированными пищевыми потребностями, чем виды, разрушающие целлюлозу. В качестве источников углерода и энергии они могут использовать широкий набор растворимых сахаров; большинство из них способно расти в сложных азотистых средах (например, содержащих пептон) в отсутствие углеводов.

Представители рода *Flexibacter* широко распространены в почве, пресной и морской воде. Среди них есть несколько видов, специфически патогенных для рыб. Инфекции, вызываемые *Flexibacter columnaris*, часто приобретают эпидемический характер, вызывая массовую гибель рыб в рыбоводных хозяйствах в теплые времена года. Патогены группы *Flexibacter* являются, вероятно, основными возбудителями заболеваний у рыб как в морских, так и в пресных водах.

НИТЧАТЫЕ СКОЛЬЗЯЩИЕ ХЕМОГЕТЕРОТРОФЫ

Кроме группы цитофаг среди скользящих бактерий с низким ГЦ-содержанием имеется ряд нитчатых хемогетеротрофов. Основные роды этих микроорганизмов перечислены в табл. 21.3.

Saprospira и *Vitreoscilla* представляют собой организмы, развивающиеся в виде гибких скользящих нитей длиной до

ТАБЛИЦА 21.3

ОСНОВНЫЕ РОДЫ НИТЕВИДНЫХ СКОЛЬЗЯЩИХ ХЕМОГЕТЕРОТРОФОВ

Род	Форма нити	Подвижность нити	Наличие прикреплённого устройства	Характер размножения	ГЦ-содержание ДНК, %
<i>Saprospira</i>	Спиральная	+	—	Фрагментация нити	35—48
<i>Vitreoscilla</i>	Прямая цилиндрическая	+	—	То же	44
<i>Simonsiella</i>	Лентовидная	+	—	» »	Не определено
<i>Leucothrix</i>	Прямая цилиндрическая	—	+	Отщепление отдельных скользящих клеток от апикального конца нити	46—51

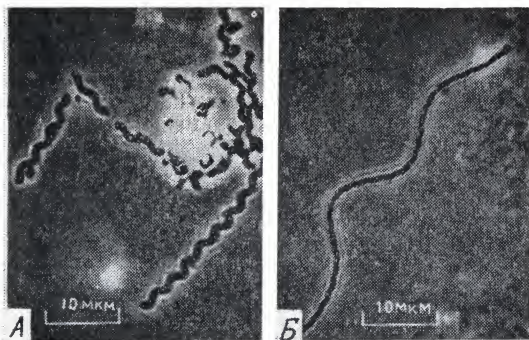


Рис. 21.10. Микрофотография *Saprospira albidula* (А) и *Saprospira grandis* (Б); фазовый контраст; $\times 451$. (С любезного разрешения Р. Левина.)



Рис. 21.11. Нити *Vitreoscilla*, растущие на поверхности чашки с агаром. (С любезного разрешения Е. Прингсхейма.)

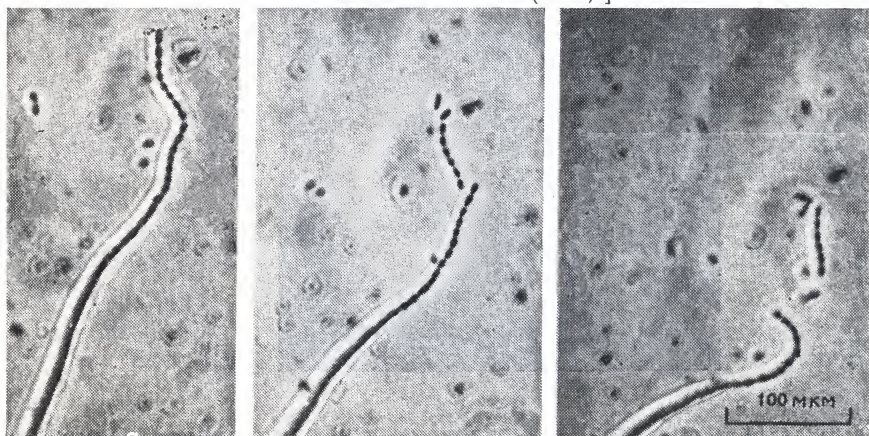
500 мкм, которые образованы клетками длиной размером от 2 до 5 мкм. Нити *Saprospira* скручены в виде спирали (рис. 21.10), а нити *Vitreoscilla* — прямые (рис. 21.11). Представители обеих групп часто встречаются в основном в водной среде. Род *Simonsiella* отличается образованием уплотненных, похожих на ленты нитей (рис. 21.12), способных двигаться только в том случае, если с субстратом контактирует широкая сторона ленты. Эти бактерии являются аэробными представителями микрофлоры ротовой полости человека и других животных. Их пищевые потребности точно неизвестны; лучше всего они развиваются в сложных средах с добавлением сыворотки или крови.

Наиболее высокодифференцированным организмом среди скользящих хемогетеротрофов является *Leucothrix*, морской организм, растущий как эпифит на водорослях; он встреча-



Рис. 21.12. *Simonsiella*—скользящая бактерия, образующая лентовидные нити из уплощенных клеток; фазовый контраст ($\times 440$). Некоторые нити видны сбоку и выглядят существенно более тонкими, чем распластанные нити. (С любезного разрешения П. Глейстер.)

Рис. 21.13. Последовательные фотографии нити *Leucothrix*, на которых видно высвобождение гонидий; фазовый контраст ($\times 309$). [Ruth Harold, Stanier R. Y., The genera *Leucothrix* and *Thiothrix*, Bact. Rev., 19, 49 (1955).]

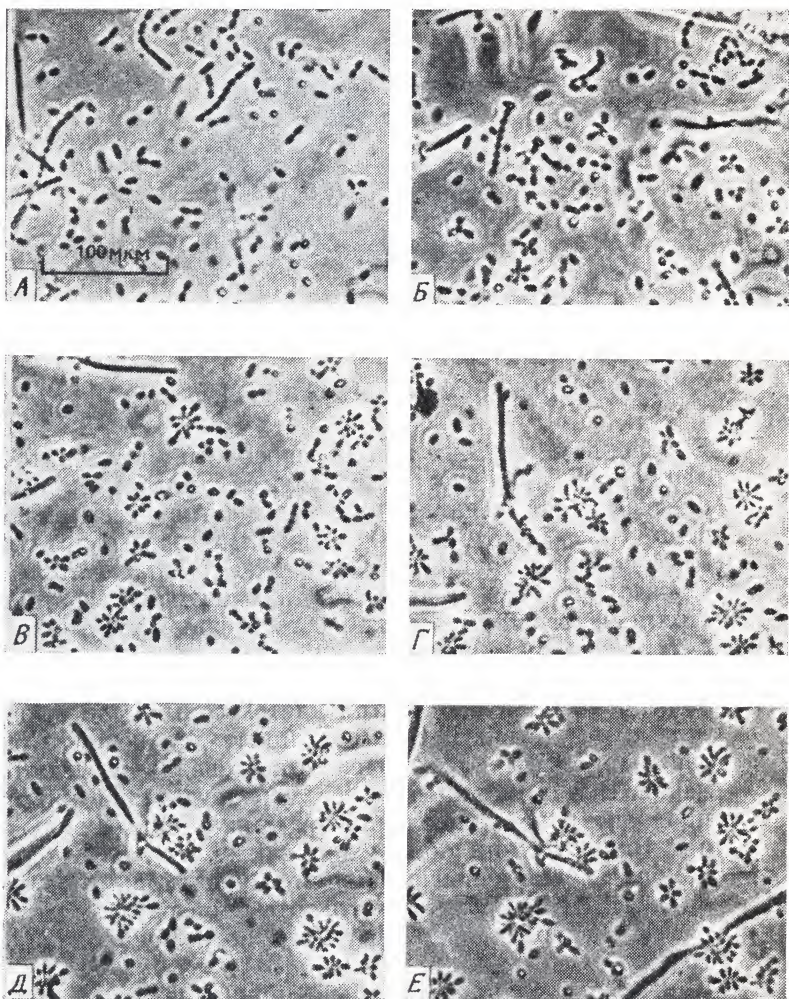


ется также на разлагающихся остатках водорослей. Очень длинные нити неподвижны и прикреплены к субстрату мало-заметными базальными прикрепляющими устройствами. Размножение происходит не за счет случайной фрагментации нити, как в случае *Saprospira*, *Vitreoscilla* и *Simonsiella*, а путем отщепления яйцевидных клеток (поодиночке или короткими цепочками) от апикального конца нити (рис. 21.13). Эти репродуктивные клетки, иногда называемые гонидиями, способны к скользящим движениям. Когда такие клетки высвобождаются в больших количествах, они агрегируют, образуя розетку; связь осуществляется за счет прикрепляющих устройств, расположенных на одном из по-

Рис. 21.14. Последовательные стадии агрегации гонидий *Leucothrix*, приводящей к образованию

розеток; фазовый контраст. Снято одно и то же поле за интервал 55 мин ($\times 279$). [Ruth

Harold, Stanier R. Y., The genera *Leucothrix* and *Thiotrix*, Bact. Rev., 19, 49 (1955).]



люсов клетки (рис. 21.14). Последующий рост клеток в розетках приводит к образованию колоний, состоящих из множества радиально расходящихся нитей, прикрепленных к центральной массе, удерживающей их вместе. *Leucothrix* может расти в морской воде, содержащей в качестве единственных источников углерода и энергии разнообразные простые органические соединения (в основном органические кислоты).

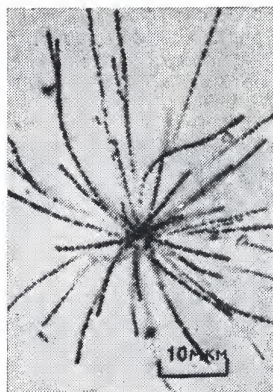


Рис. 21.15. Характерная розетка *Thiothrix*, нити которой заполнены гранулами серы ($\times 475$). (С любезного разрешения Е. Ордела.)

НИТЧАТЫЕ БАКТЕРИИ, ОКИСЛЯЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ СЕРЫ

В аэробных морских или пресноводных местообитаниях, содержащих H_2S , часто встречаются нитчатые скользящие бактерии, наполненные преломляющими свет включениями серы (рис. 21.15). Двумя основными представителями этой экологической группы являются *Beggiatoa* и *Thiothrix*, структурные аналоги *Vitreoscilla* и *Leucothrix* соответственно. Примерно в 1885 г., изучая естественные популяции *Beggiatoa* и *Thiothrix*, Виноградский показал, что эти организмы окисляют H_2S в аэробных условиях. Вначале окисление приводит к накоплению внутри клеток серы. Если выдерживать нити в отсутствие H_2S , в результате дальнейшего окисления серы до H_2SO_4 ее включения постепенно исчезают. Добавление H_2S к истощенной по сере суспензии нитей быстро приводит к восстановлению внутриклеточных включений серы. Виноградский обнаружил также, что для поддержания накопительной культуры *Beggiatoa* необходимо периодически подавать H_2S . Именно результаты этой работы легли в основу его первоначальной формулировки концепции хемоавтотрофии.

Как это ни парадоксально, принадлежность *Beggiatoa* и *Thiothrix* к хемоавтотрофам до сих пор недоказана, что связано главным образом с трудностями их культивирования. Способность этих организмов окислять H_2S до S и затем до H_2SO_4 , не свойственная их структурным аналогам *Vitreoscilla* и *Leucothrix*, не вызывает сомнений. Возможно, за счет этого процесса клетки обеспечиваются АТФ. Но следует отметить, что все штаммы *Beggiatoa*, которые удалось получить в чистом виде, были выделены в хемогетеротрофных условиях. Поэтому вполне возможно, что клетки *Beggiatoa*

требуют органических источников углерода даже при наличии неорганических источников энергии и поэтому прямо не подходят под определение хемоавтотрофов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Обзоры

- Dworkin M. (1966), Biology of the Myxobacteria, Ann. Rev. Microbiol., **20**, 75.
Harold R., Stanier R. Y. (1955), The Genera *Leucothrix* and *Thiothrix*, Bact. Rev., **19**, 49.
Soriano S. (1973), Flexibacteria, Ann. Rev. Microbiol., **27**, 155.
Stanier R. Y. (1942), The Cytophaga Group, Bact. Rev., **6**, 143.

Оригинальные работы

- Anderson J. I. W., Conroy D. A. (1969), The Pathogenic Myxobacteria with Special Reference to Fish Diseases, J. Appl. Bact., **32**, 30.
McCurdy H. D. (1969), Studies on the Taxonomy of the Myxobacterales. I. Record of Canadian Isolates and Survey of Methods, Can. J. Microbiol., **15**, 1453.
McCurdy, (1970), Studies on the Taxonomy of the Myxobacterales. II. *Polyangium* and the Demise of the *Synangiaceae*. Int. J. Syst. Bact., **20**, 283.
McCurdy (1971), Studies on the Taxonomy of the Myxobacterales. III. *Chondromyces* and *Stigmatella*, Int. J. Syst. Bact., **21**, 40.
Pringsheim E. G. (1951), The *Vitreoscillaceae*: A Family of Colourless, Gliding, Filamentous Organisms, J. Gen. Microbiol., **5**, 124.
Steed P. D. M. (1963), *Simonsiellaceae* fam. nov. with Characterization of *Simonsiella crassa* and *Alysella filiformis*, J. Gen. Microbiol., **29**, 615.
Thaxter R. (1892), On the Myxobacteriaceae, a new Order of Schizomycetes, Botan. Gaz., **17**, 389.
Voelz H. (1967), The Physical Organization of the Cytoplasm in *Myxococcus xanthus* and the Fine Structure of Its Components, Arch. Mikrobiol., **57**, 181.

22 ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ: ОДНОКЛЕТОЧНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

Многие одноклеточные грамположительные бактерии способны образовывать покоящиеся клетки особого рода, известные под названием *эндоспор*. Эндоспоры (рис. 22.1) легко распознаются под микроскопом по следующим признакам: они образуются внутри клетки, обладают чрезвычайно высокой преломляющей способностью и не окрашиваются основными анилиновыми красителями, прекрасно окрашивающими вегетативные клетки. Во время активного роста и деления клеток эндоспоры обычно не образуются. Их развитие начинается, когда популяция вегетативных клеток выходит из экспоненциальной фазы роста в результате недостатка пищевых веществ. Обычно внутри каждой вегетативной клетки образуется одна эндоспора, которая после созревания высвобождается при лизисе клетки. Свободные эндоспоры не проявляют метаболической активности, но в течение многих (часто десятков) лет сохраняют потенциальную способность к прорастанию и развитию в вегетативные клетки. Такое состояние полного покоя известно под названием *криптобиоза*. Эндоспоры, кроме того, высоко устойчивы к нагреванию, ультрафиолетовому свету и ионизирующей радиации, а также ко многим токсическим веществам. Устойчивость спор к нагреванию часто используется при выделении спорообразующих бактерий; для этого суспензию исходного материала подвергают термической обработке, приводящей к гибели всех вегетативных клеток.

Одноклеточные спорообразующие бактерии размножаются бинарным поперечным делением и, за одним исключением, имеют форму палочек. Экспоненциально растущие клетки дают положительную реакцию при окраске по Граму, однако при переходе в стационарную фазу многие спорообразующие бактерии быстро становятся грамтрицательными. Широко распространены подвижные формы, но это свойство не является повсеместным. Движение осуществляется с помощью перитрихально расположенных жгутиков.

Спорообразующие бактерии являются хемотротрофами. Диссимиляция органических субстратов осуществляется в результате аэробного дыхания, анаэробного дыхания или брожения. Некоторым (но не всем) представителям необходимы факторы роста.

Обычно спорообразующие бактерии обитают в почве. Некоторые виды патогенны для насекомых или позвоночных. Большинство патогенных спорообразующих бактерий вызы-

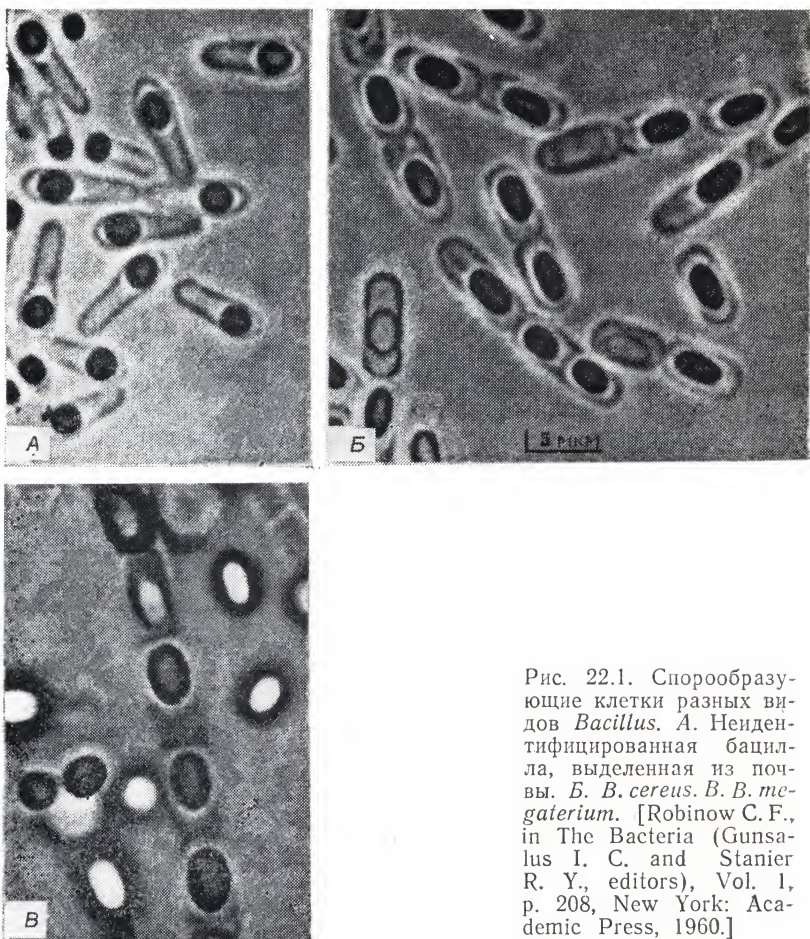


Рис. 22.1. Спорообразующие клетки разных видов *Bacillus*. А. Неидентифицированная бацилла, выделенная из почвы. Б. *B. cereus*. В. *B. megaterium*. [Robinow C. F., in The Bacteria (Gunsalus I. C. and Stanier R. Y., editors), Vol. 1, p. 208, New York: Academic Press, 1960.]

вают заболевание в результате образования токсинов и лишь немногие из них способны проникать в ткани животных.

КЛАССИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ, ОБРАЗУЮЩИХ ЭНДОСПОРЫ

Первичное таксономическое подразделение спорообразующих бактерий (табл. 22.1) основано на их отношении к кислороду. Бактерии родов *Clostridium* и *Desulfotomaculum* являются облигатными анаэробами, хотя виды *Clostridium* несколько различаются по этому признаку. На воздухе вегетативные клетки (но не споры), как правило, быстро погибают. *Clostridium* и *Desulfotomaculum* различаются по характеру метаболизма. Виды *Clostridium* синтезируют АТФ за счет брожения, причем типы брожения отличаются чрезвычайным разнообразием в отношении как субстратов, так и продуктов.

Виды *Desulfotomaculum* осуществляют анаэробное дыхание, используя в качестве конечного акцептора электрона сульфат. Такой механизм синтеза АТФ характерен также для не образующих спор грамотрицательных облигатных анаэробов рода *Desulfovibrio* (гл. 24). Сульфатредуцирующие бактерии обладают гемсодержащими белками, связанными с анаэробной цепью переноса электронов, тогда как клостридии гемсодержащих белков не синтезируют¹.

Роды *Bacillus* и *Sporosarcina* состоят из аэробов, как облигатных, так и факультативных, имеющих аэробную цепь переноса электронов. Всех аэробных спорообразующих бактерий палочковидной формы относят к одному роду *Bacillus*, хотя они представляют весьма гетерогенную группу как в физиологическом, так и биохимическом отношении. Виды со сферическими клетками относят к роду *Sporosarcina*; физиологически эти бактерии близки к одной из подгрупп *Bacillus*.

ТАБЛИЦА 22.1

СВОЙСТВА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ БАКТЕРИЙ, ОБРАЗУЮЩИХ ЭНДОСПОРЫ

Род	Форма вегетативных клеток	Отношение к кислороду	Характер катаболизма	ГЦ-содержание ДНК, %
<i>Bacillus</i>	Палочки	Аэробы, некоторые виды — факультативные анаэробы	Аэробное дыхание, у некоторых видов также брожение или денитрификация	33—51
<i>Sporosarcina</i>	Кокки	Облигатные аэробы	Аэробное дыхание	40—43
<i>Clostridium</i>	Палочки	Облигатные анаэробы	Брожение	22—28
<i>Desulfotomaculum</i>	»	То же	Анаэробное дыхание с использованием в качестве конечного акцептора электронов SO_4^{2-}	42—46

Как видно из табл. 22.1, ДНК большинства спорообразующих бактерий отличается низким ГЦ-содержанием. Этот химический признак особенно выражен у клостридиев, характеризующихся наименьшим ГЦ-содержанием среди всех прокариот.

СТРУКТУРА ПЕПТИДОГЛИКАНА

Разнообразие в структуре пептидогликанов клеточной стенки, особенно сильно проявляющееся у грамположительных

186 ¹ У некоторых видов *Clostridium* обнаружены цитохромы типа *b*. — Прим. ред.

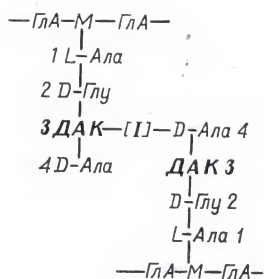


Рис. 22.2. Структура пептидогликанов спорообразующих бактерий. Структурные элементы, различающиеся у разных бактерий, изображены жирным шрифтом; в 3-м положении пептидной цепи могут находиться разные диаминокислоты (ДАК), а у некоторых видов присутствуют дополнительные аминокислоты, образующие межпептидный мостик [1]. М — N-ацетилмуравовая кислота, ГлА—N-ацетилглюкозамин.

бактерий актиноцетной линии (гл. 23), в какой-то мере характерно и для спорообразующих бактерий (рис. 22.2 и табл. 22.2). Большинство бацилл и клостридиев синтезирует пептидогликан стенки вегетативных клеток, структура которого почти универсальна для грамотрицательных прокариот: он содержит мезо-диаминопимелиновую кислоту в качестве диаминовой кислоты, прямо связанную с D-аланином. Распространенность пептидогликанов других форм представлена в табл. 22.2. Следует, однако, отметить, что у эндоспор в

ТАБЛИЦА 22.2

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ПЕПТИДОГЛИКАНОВ
СРЕДИ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Диаминкислота в 3-м положении	Межпептидный мостик	
мезо-Диамино- пимелиновая кислота	Отсутствует	{ <i>Bacillus</i> (большинство видов) <i>Clostridium</i> (большинство видов)
L-лизин	Имеется	{ <i>Sporosarcina</i> <i>Bacillus sphaericus</i> <i>B. pasteurii</i>
L-лизин	Отсутствует	{ <i>Clostridium septicum</i> <i>C. tertium</i> <i>C. paraputrificum</i>
L,L-диаминопимелиновая кислота	Имеется	{ <i>Clostridium pectinovorum</i> <i>C. fallax</i> <i>C. perfringens</i>

оболочке содержится пептидогликан уникальной структуры, вероятно, сходной для всех спорообразующих бактерий и отличающейся во многих отношениях от структуры пептидогликанов вегетативных клеток. Далее мы еще вернемся к этому вопросу.



Рис. 22.3. *Metabacterium polyspora*: мазок из кишечного тракта морской свинки; видны три спорулирующие клетки, каждая из которых содержит две или более палочковидные эндоспоры ($\times 1700$). (С любезного разрешения Робину.)

ВОЗМОЖНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ЭНДОСПОР ДРУГИМИ БАКТЕРИЯМИ

В содержимом кишечника травоядных часто встречаются очень крупные бактерии, одноклеточные или нитчатые, образующие внутриклеточные структуры, возможно, являющиеся эндоспорами. Одним из примеров таких бактерий является *Metabacterium*, каждая из клеток которой содержит несколько спороподобных тел (рис. 22.3). Поскольку ни одну из этих бактерий до сих пор не удалось культивировать на искусственных средах, об их цикле развития и о свойствах образуемых ими спор ничего не известно.

Недавно было четко показано, что истинные эндоспоры, обладающие структурными, химическими и физиологическими свойствами эндоспор одноклеточных бактерий, образуются представителями одной небольшой группы актиномицетов *Thermoactinomyces*. Эти организмы и свойства образуемых ими спор будут рассмотрены в гл. 23.

АЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

Большинство аэробных спорообразующих бактерий являются всеядными хемогетеротрофами, способными использовать в качестве субстратов, окисляемых при дыхании, разнообразные простые органические соединения (сахара, аминокислоты, органические кислоты). Некоторые из них могут также сбраживать углеводы. Отдельные виды не требуют органических факторов роста, другие нуждаются либо в аминокислотах, либо в витаминах группы В, либо в тех и других. Большинство аэробных спорообразующих бактерий — мезофиллы с температурным оптимумом от 30 до 45°, хотя имеется и ряд термофильных представителей, растущих при температуре вплоть до 65°.

Мезофильные виды рода *Bacillus* можно разделить на три группы, различающиеся по структуре и внутриклеточной локализации эндоспор (табл. 22.3).

ТАБЛИЦА 22.3

ГРУППЫ МЕЗОФИЛЬНЫХ ВИДОВ *BACILLUS*

Группа	Структура спорулирующей клетки			Основные представители
	форма эндоспоры	положение эндоспоры в вегетативной клетке	растяжение вегетативной клетки спорой	
I	Овальная:	Центральное	—	<i>B. subtilis</i> <i>B. cereus</i> <i>B. lactidiosus</i> <i>B. polymyxa</i>
II	Овальная; спора имеет толстую оболочку с выростами	»	+	
III	Сферическая	Полярное	+	<i>B. pasteurii</i>

Исходя из размеров клеток и наличия или отсутствия поли-β-оксимасляной кислоты в качестве запасного клеточного вещества, из группы I можно выделить подгруппы *B. subtilis* и *B. cereus* (табл. 22.4).

ТАБЛИЦА 22.4

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ПОДГРУПП *B. SUBTILIS* И *B. CEREUS*

Подгруппа *B. subtilis*: ширина вегетативных клеток меньше 0,8 мкм; они не образуют в качестве запасного вещества поли-β-оксимасляной кислоты

	Анаэробный рост за счет использования	
	сахаров	нитрата (денитрификация)
<i>B. subtilis</i>	—	—
<i>B. licheniformis</i>	+	+

Подгруппа *B. cereus*: ширина вегетативных клеток больше 1 мкм, образуют в качестве запасного вещества поли-β-оксимасляную кислоту

	Подвижность	Анаэробный рост за счет использования сахаров	Потребность в факторах роста	Патогенность
<i>B. cereus</i>	+	+	+	Отсутствует
<i>B. anthracis</i>	—	+	+	Патогенен для млекопитающих
<i>B. thuringensis</i>	+	+	+	Патогенен для насекомых
<i>B. megaterium</i>	+	—	—	Отсутствует

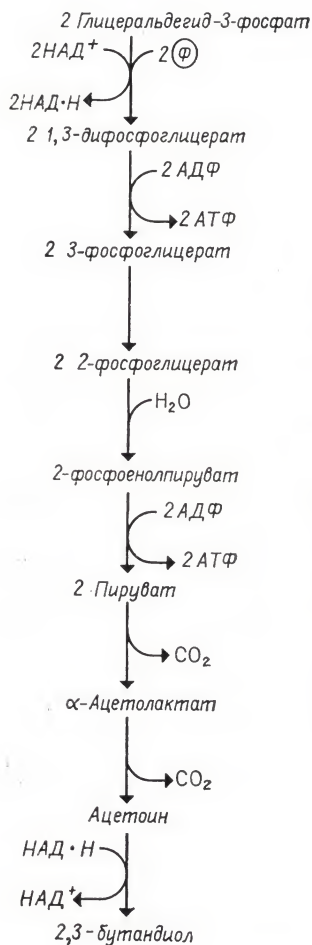


Рис. 22.4. Превращение триозофосфата в 2,3-бутандиол.

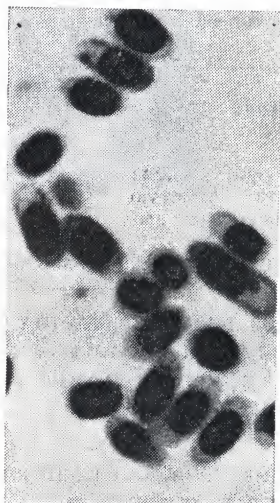


Рис. 22.5. Зрелые: эндоспores *Bacillus cereus* ($\times 3600$). Каждая окрашенная эндоспора окружена менее ярко окрашенным экзоспориумом. (С любезного разрешения Робину.)

Большинство видов группы I может расти в анаэробных условиях за счет использования сахаров. Им присущ характерный тип брожения: основными конечными продуктами его являются 2,3-бутандиол, глицерин и CO_2 ; кроме того, образуются небольшие количества молочной кислоты и этанола. Этот тип брожения может быть представлен следующим образом:



Глюкоза первоначально расщепляется по пути Эмбдена — Мейергофа до триозофосфата, после чего происходит разветвление метаболического пути. Часть триозофосфата превращается в пируват, из которого образуются бутандиол и CO_2 , как это показано на рис. 22.4. Однако образование бутандиола из пирувата приводит к повторному окислению только

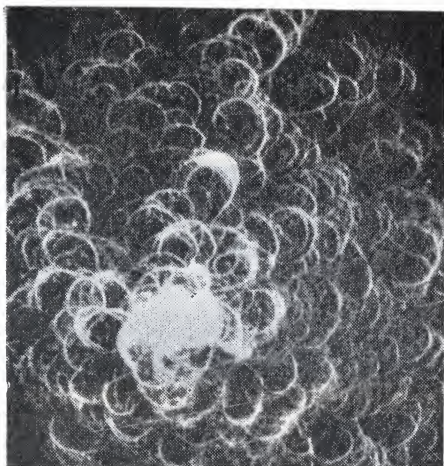
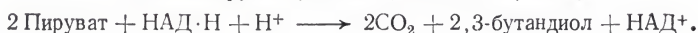
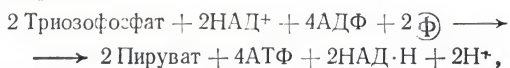
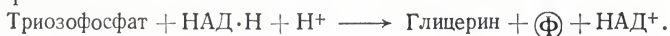


Рис. 22.6. Колония *Bacillus cereus* var. *misoides* ($\times 1,29$). (С любезного разрешения Робинсу.)

части НАД·Н, образовавшегося при превращении триозофосфата в пируват:



Окислительно-восстановительное равновесие поддерживает за счет сопутствующего восстановления триозофосфата до глицерина:



B. subtilis в отличие от большинства других видов группы I не может расти в анаэробных условиях за счет использования глюкозы, вероятно из-за неспособности восстанавливать триозофосфат до глицерина; на воздухе этот вид сбраживает глюкозу с образованием больших количеств 2,3-бутандиола. *B. licheniformis* может расти в анаэробных условиях за счет использования несбраживаемых органических субстратов при наличии нитрата, поскольку способен к активной денитрификации. Этим свойством обладает только данный вид *Bacillus*.

Характерными представителями группы I являются *B. cereus*, одна из самых распространенных почвенных аэробных спорообразующих бактерий, и два родственных патогена — *B. anthracis* и *B. thuringensis*. У всех этих трех видов эндоспоры заключены в неплотно прилегающий наружный чехол, называемый экзоспориумом (рис. 22.5); другие бациллы такого чехла не имеют. Некоторые штаммы *B. cereus* образуют характерные неплотные расплывающиеся колонии, отдаленно напоминающие колонии грибов (рис. 22.6). *B. anthracis* является возбудителем сибирской язвы — заболевания крупного рогатого скота и овец, передающегося и людям. Это одна

Рис. 22.7. Цепочка из спорообразующих клеток *Bacillus thuringiensis*, фазовый контраст (×3900). Каждая клет-

ка помимо яркой, сильно преломляющей свет споры содержит бипирамидальное кристаллическое включение с мень-

шим показателем преломления. (С любезного разрешения П. Фитц-Джеймса.)

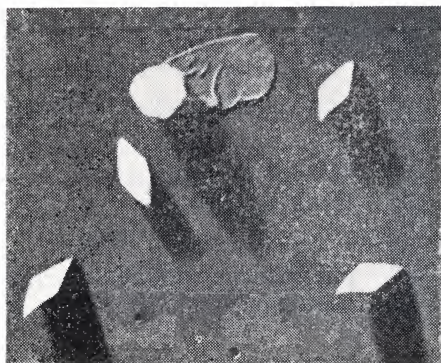
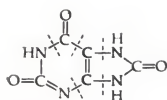


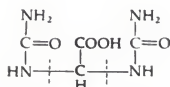
Рис. 22.8. Электронная микрофотография свободных кристалликов и свободной споры, окруженной экзоспориумом кристаллообразующего вида *Bacillus*; напыление металлом (×7500). [Hannay C. L., FitzJames P., The protein crystals of *B. thuringiensis*, Can. J. Microbiol., 1, 694 (1955).]

из немногих спорообразующих бактерий, являющихся истинным паразитом в том смысле, что она может развиваться в организме животного-хозяина. Кроме патогенных свойств, биохимический механизм которых подробно исследован (гл. 29), *B. anthracis* отличается от *B. cereus* полной неподвижностью.

B. thuringiensis — возбудитель паралитического заболевания у гусениц многих чешуекрылых насекомых. Параличи возникают в результате поедания ими растительной пищи, на поверхности которой имеются споры или спорулирующие клетки этого вида бактерий. Каждая спорулирующая клетка *B. thuringiensis* образует примыкающий к споре правильный бипирамидальный белковый кристаллик (рис. 22.7), который высвобождается вместе со спорой при автолизе родительской клетки (рис. 22.8). Белок, образующий кристаллик, токсичен для насекомых. Попадая в кишечник, он растворяется в его щелочном содержимом и вызывает разрушение эпителия кишечной стенки с последующей диффузией жидкости из кишечника в кровь. Это приводит к быстрому параличу. Поскольку околоспоровый белок *B. thuringiensis* токсичен для личинок большого числа чешуекрылых насекомых, но не



Мочевая кислота



Аллантииновая кислота



Глиоксильная кислота

Рис. 22.9. Структурные формулы мочевой кислоты и двух образующихся из нее метаболитов. Эти три соединения являются единственными субстратами, используемыми *Bacillus fastidiosus* в качестве источников углерода и энергии. Связи, по которым атакуются мочевая и аллантииновая кислоты, показаны пунктиром, а атомы углерода, которые включаются в глиоксильную кислоту, выделены жирным шрифтом. Другими продуктами окисления являются мочевина и CO_2 .

токсичен для позвоночных, препараты спорообразующих клеток этого организма нашли широкое применение в сельском хозяйстве в качестве инсектицида (гл. 31).

К крупным спорообразующим бактериям группы I относится один вид, *B. fastidiosus*, замечательный своими высокоспециализированными пищевыми потребностями. Накопительную культуру этого организма, являющегося облигатным аэробом, можно получить благодаря его способности осуществлять окислительную диссимиляцию пурина — мочевой кислоты, которая служит для него единственным источником углерода, энергии и азота. Из множества других проверенных органических соединений в качестве источников углерода и энергии могли использоваться только два — аллантииновая и глиоксильная кислоты, причем оба они являются промежуточными соединениями диссимиляции мочевой кислоты (рис. 22.9).

Два основных вида *Bacillus* группы II, *B. polymyxa* и *B. macerans*, образуют споры, обладающие характерной толстой наружной оболочкой с выростами, отчего в разрезе спора имеет звездчатый вид (рис. 22.10). Оба вида растут за счет брожения, расщепляя крахмал и пектины, а также моносахариды; интенсивный рост возможен только при наличии соответствующего углевода. *B. polymyxa* осуществляет бутандиоловое брожение, химически отличное от брожения у бацилл группы I: кроме 2,3-бутандиола в качестве основных продуктов брожения образуются этанол, CO_2 и H_2 . Продуктами сбраживания сахаров у *B. macerans* являются этанол, ацетон, муравьиная кислота, CO_2 и H_2 . Образование H_2 в качестве основного конечного продукта и неспособность образовывать глицерин отличает процесс сбраживания сахаров этими видами от сбраживания его бактериями группы I. Другим от-



Рис. 22.10. Электронная микрофотография поперечного среза споры *Bacillus polymyxa*; виден сложный звездчатый контур оболочки ($\times 32\,400$). (С любезного разрешения Р. Мюррея.)

личительным признаком и *B. polymyxa*, и *B. macerans* является способность фиксировать N_2 при росте в анаэробных условиях; пока это единственные известные виды *Bacillus*, обладающие данным свойством.

Виды *Bacillus* группы III (*B. sphaericus* и *B. pasteurii*), для которых характерно образование сферических спор, локализованных у одного из полюсов спорулирующей клетки, по нескольким физиологическим и метаболическим признакам образуют отдельную подгруппу бацилл. Как видно из табл. 22.2, пептидогликан их клеточной стенки имеет другую химическую структуру, чем пептидогликан других аэробных спорообразующих бактерий. Виды *Bacillus* группы III не способны к брожению и к эффективному использованию углеводов в качестве источников энергии при дыхании. Основными субстратами дыхательного метаболизма являются аминокислоты и органические кислоты. Многие (хотя и не все) виды образуют большое количество уреазы, катализирующей гидролиз мочевины:



Хотя эта реакция не приводит к синтезу АТФ, она имеет важное физиологическое значение для бацилл, расщепляющих мочевину. Основной представитель этой группы, *B. pasteurii*, не может расти на обычных сложных средах (например, в питательном бульоне) при pH, равном 7, без добавления мочевины. Хотя мочевина является нейтральным веществом, ее гидролиз приводит к образованию значительных количеств щелочи, поскольку на 1 моль расщепленной мочевины образуется 2 моля аммиака. Поэтому среда с мочевиной при засеве ее *B. pasteurii* в результате образования аммиака быстро становится сильно щелочной. Мочевину можно заменить аммиаком при высоком исходном pH (8,5). Никакой другой моновалентный катион заменить аммиак не может, причем он необходим *B. pasteurii* и для дыхания, и для роста. Следовательно, фактически потребность в мо-

чевине отражает специфическую потребность *B. pasteurii* в аммиаке и высоком pH. К *B. pasteurii* в метаболическом и физиологическом отношении, а также по составу клеточной стенки весьма близок единственный вид рода *Sporosarcina*, *S. ureae*. Как показывают опыты по гибридизации нуклеиновых кислот, эти два вида с близким нуклеотидным составом ДНК родственны и в генетическом отношении.

Экологические преимущества, приобретенные рассмотренными выше спорообразующими бактериями в результате их способности к интенсивному гидролизу мочевины, можно легко продемонстрировать простым опытом с накопительной культурой. Если пептонную среду, содержащую от 2 до 5% мочевины, засеять непрогретой почвой, то развивающаяся в такой среде популяция будет представлена исключительно расщепляющими мочевины спорообразующими бактериями, хотя в виде чистой культуры в этой среде могут расти очень многие хемогетеротрофные бактерии. В накопительной же культуре все конкурирующие бактерии погибают из-за высоких концентраций аммиака, появляющегося в результате расщепления мочевины спорообразующими бактериями.

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ БАЦИЛЛЫ

Особую физиологическую группу среди аэробных спорообразующих бактерий составляют экстремальные термофилы, которые могут расти при температурах до 65° и обычно не способны к росту при температуре ниже 45°. Этим свойством обладают, по-видимому, несколько видов бактерий, но их таксономия детально не исследована. Специфической средой обитания таких бактерий служат разлагающиеся растительные материалы, в которых хорошо сохраняется тепло, образующееся за счет метаболической активности микробов. Классическим примером такого местообитания является мокрый стог сена, в котором температура поднимается иногда столь значительно, что происходит самовозгорание. По мере повышения температуры, обусловленного сначала метаболической активностью мезофильных микроорганизмов, исходная популяция микробов заменяется термофилами, в основном бациллами и актиномицетами.

АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ: РОД *CLOSTRIDIUM*

Анаэробные спорообразующие бактерии, осуществляющие брожение (род *Clostridium*), были открыты Пастером в середине XIX в., когда он обнаружил, что некоторые из этих организмов осуществляют сбраживание сахаров, сопровождаемое образованием масляной кислоты. Вскоре было показано, что клостридии являются основными агентами, вызывающими анаэробное расщепление белков (гниение). К концу

XIX в. стало очевидным, что некоторые клостридии вызывают ряд заболеваний у человека и животных. Как и другие представители этой группы, патогенные клостридии — это нормальные обитатели почвы; они почти не способны заселять организм животного: заболевания, вызываемые ими, возникают вследствие образования разнообразных высокотоксичных белков (экзотоксинов). Так, ботулизм (вызываемый *C. botulinum*) и ряд менее серьезных пищевых отравлений, вызываемых клостридиями (возбудитель — *C. perfringens*), являются чистыми интоксикациями. Они обусловлены употреблением пищевых продуктов, в которых эти организмы уже развились и образовали токсины. Другие серьезные заболевания, вызываемые клостридиями, — столбняк (возбудитель — *C. tetani*) и газовая гангрена (вызываемая несколькими другими видами клостридиев) — являются результатом раневых инфекций; повреждение тканей создает анаэробные условия, обеспечивающие локальный рост этих организмов и образование токсинов. Некоторые токсины клостридиев (вызывающие симптомы ботулизма и столбняка) являются сильными ингибиторами нервных функций. Другие (вызывающие газовую гангрену) представляют собой ферменты, разрушающие ткани; среди этих ферментов имеются лецитиназы, гемолизины и разнообразные протеазы (гл. 29).

ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ РОДА *CLOSTRIDIUM*

К настоящему времени описано более 60 видов *Clostridium*, однако принятое сейчас таксономическое подразделение этой группы бактерий нельзя признать удовлетворительным. Наиболее надежную основу для такого подразделения дает, по видимому, чрезвычайно большое разнообразие механизмов диссимиляции у бактерий этого рода. Поэтому их описание будет проведено здесь на основании прежде всего именно этих свойств.

МАСЛЯНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

Многие клостридии сбраживают растворимые углеводы, крахмал или пектин с образованием уксусной и масляной кислот, CO_2 и H_2 . Эти *маслянокислые бактерии* плохо или совсем не растут в сложных средах в отсутствие сбраживаемого углевода. Для данной подгруппы характерны еще два отличительных признака: в качестве клеточного запасного вещества они синтезируют крахмалоподобный полисахарид, который выявляется под микроскопом по темно-фиолетовой окраске клеток, обработанных раствором иода. Отличительной особенностью многих видов маслянокислых бактерий является их способность весьма эффективно фиксировать молекулярный азот.

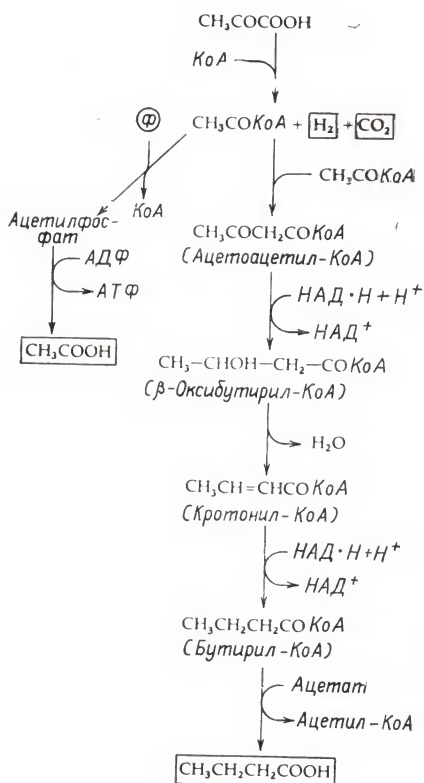


Рис. 22.11. Пути образования конечных продуктов (заключены в прямоугольники) маслянокислого брожения при сбраживании пировиноградной кислоты.

Маслянокислое брожение начинается с превращения сахаров в пировиноградную кислоту по пути Эмбдена — Мейергофа. Пути образования конечных продуктов из пировиноградной кислоты показаны на рис. 22.11. Пировиноградная кислота расщепляется до ацетил-КоА, CO_2 и H_2 . Из ацетил-КоА через ацетилфосфат образуется уксусная кислота, что сопровождается синтезом АТФ. Синтез масляной кислоты начинается с конденсации 2 молей ацетил-КоА с образованием ацетоацетил-КоА, который затем восстанавливается до бутирил-КоА. Масляная кислота образуется при последующем переносе КоА на ацетат:



Таким образом, путь образования масляной кислоты циклический, он включает ресинтез ацетил-КоА из свободного ацетата, как показано на рис. 22.12. В конечном итоге предшественниками масляной кислоты являются ацетил-КоА и свободный ацетат (в эквимольных количествах). Суммарную реакцию для маслянокислого сбраживания глюкозы

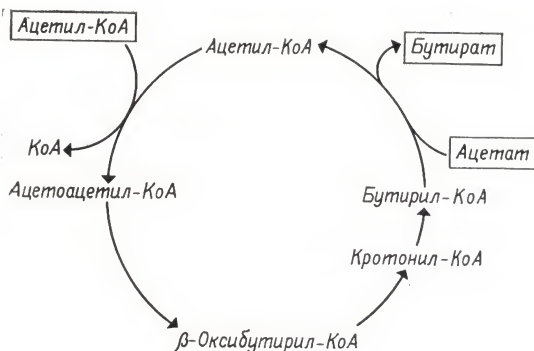
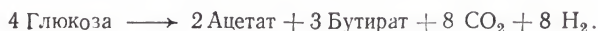


Рис. 22.12. Циклический процесс, приводящий к образованию масляной кислоты из ацетата и ацетил-КоА.

можно в первом приближении описать следующим уравнением:



Поскольку образование ацетата из ацетил-КоА сопровождается синтезом АТФ, выход АТФ на 1 моль сброженной глюкозы составляет примерно 2,5 моля.

Некоторые маслянокислые бактерии образуют из сахаров дополнительные нейтральные соединения (бутанол, ацетон, изопропанол и небольшие количества этанола). За исключением этанола (образующегося при восстановлении ацетил-КоА), эти нейтральные продукты возникают за счет отщепления от обычного пути образования масляной кислоты, как показано на рис. 22.13. Их образование сопровождается уменьшением выхода масляной кислоты и H_2 , что показывает сравнение балансов брожения, приведенных в табл. 22.5. При наличии таких модификаций маслянокислого брожения образование нейтральных продуктов обычно происходит на поздних стадиях роста культур. Их синтез сопровождается

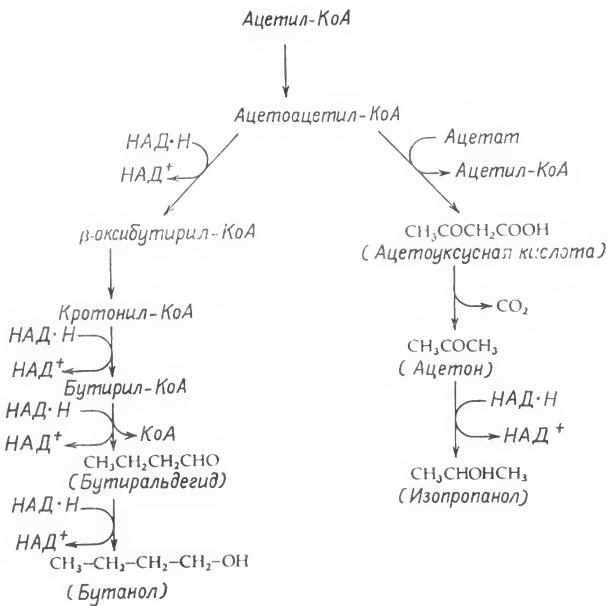
ТАБЛИЦА 22.5

ПРОДУКТЫ СБРАЖИВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ ТРЕМЯ ВИДАМИ МАСЛЯНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ¹

	<i>C. lactoaceto-</i> <i>philum</i>	<i>C. acetobuty-</i> <i>licum</i>	<i>C. butyricum</i>
Масляная кислота	73	4	17
Уксусная кислота	28	14	17
CO ₂	190	221	204
H ₂	182	135	78
Этанол	—	7	—
Бутанол	—	56	59
Ацетон	—	22	—
Изопропанол	—	—	12

¹ Число молей на 100 молей сброженной глюкозы.

Рис. 22.13. Пути образования бутанола, ацетона и изопропанола из ацетил-КоА.



использованием определенной части образовавшегося ранее H₂, который идет на восстановление НАД⁺. Поэтому накопление нейтральных конечных продуктов обусловлено поддержанием в культуре высокого парциального давления водорода и может быть значительно уменьшено, если удалять из культуры водород по мере его образования. Такой тип брожения, известный под названием *ацетон-бутанолового*, осуществляется *C. acetobutylicum* (табл. 22.5) и используется в промышленности (гл. 31).

АНАЭРОБНАЯ ДИССИМИЛЯЦИЯ КЛОСТРИДИЯМИ АМИНОКИСЛОТ

Многие виды *Clostridium* могут хорошо расти в сложных средах, содержащих пептоны или дрожжевой экстракт, в отсутствие сбраживаемых углеводов. Эти организмы осуществляют разложение азотистых соединений (гниение) в природе. К ним относятся также основные патогенные клостридии (*C. botulinum*, *C. tetani* и *C. perfringens*). Рост в сложных средах сопровождается образованием аммиака, CO₂, H₂, жирных кислот и множества других летучих соединений, часто обладающих неприятным запахом. Природа специфических сбраживаемых субстратов и пути их диссимиляции долго оставались неизвестными. Их удалось выяснить за последние 40 лет в основном благодаря работам Л. Стикланда и Г. Баркера и его сотрудников.

По-видимому, наиболее распространенным механизмом диссимиляции аминокислот у рассматриваемых организмов

является сбраживание пар аминокислот, одна из которых, окисляясь, отдает электрон, а другая, восстанавливаясь, принимает его. Такой тип диссимиляции аминокислот известен под общим названием реакции Стикланда. Как показано в табл. 22.6, от того, в какой роли выступают аминокислоты в реакции Стикланда, их можно разделить на две группы. Од-

ТАБЛИЦА 22.6

АМИНОКИСЛОТЫ, ВЫСТУПАЮЩИЕ В РОЛИ ДОНОРОВ И АКЦЕПТОРОВ ЭЛЕКТРОНОВ В РЕАКЦИИ СТИКЛАНДА¹

Доноры электронов		Акцепторы электронов	
аминокислота	относительная скорость окисления	аминокислота	относительная скорость восстановления
Аланин	100	Глицин	100
Лейцин	100	Пролин	100
Изолейцин	100	Оксипролин	100
Норлейцин	100	Орнитин	100
Валин	76	Аргинин	80
Гистидин	37	Триптофан	67
Фенилаланин	28	Тирозин	25
Триптофан	17	Цистеин	22
Тирозин	16	Метионин	15
Серин	16		
Аспарагин	13		

¹ Относительные скорости окисления (или восстановления), приведенные в таблице, определены у *C. sporogenes*.

ни всегда являются донорами электронов, другие — акцепторами. И в той, и в другой роли могут выступать только тирозин и триптофан.

В качестве примера процесса, протекающего по типу реакции Стикланда, можно привести сопряженное сбраживание аланина и глицина — соединений, которые большинством клостридий поодиночке не сбраживаются. Суммарную реакцию можно записать в виде



Реакции, с помощью которых осуществляется это превращение, представлены на рис. 22.14. Аланин, донор электронов, окислительно дезаминируется до пировиноградной кислоты, которая затем расщепляется до ацетил-КоА и CO_2 . Далее в результате превращения ацетил-КоА в ацетат образуется 1 моль АТФ на 1 моль окисленного аланина. Для обоих окислительных этапов акцептором электронов служит НАД⁺. Образовавшийся НАД·Н реокисляется при восстановительном дезаминировании глицина до ацетата. Выход АТФ составляет, таким образом, 1 моль на 3 моля диссимилированных аминокислот. С точки зрения генерации АТФ реакция Стикланда очень выгодна для организмов, растущих в ана-

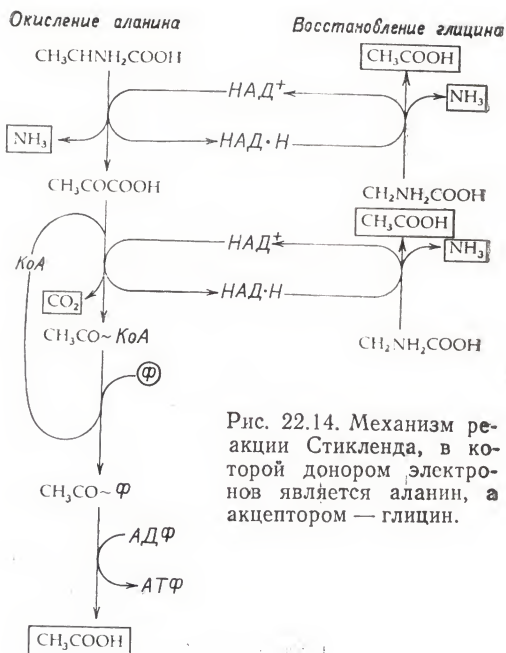


Рис. 22.14. Механизм реакции Стикланда, в которой донором электронов является аланин, а акцептором — глицин.

эробных условиях в среде, богатой белками, поскольку практически все входящие в белки аминокислоты могут быть использованы в качестве источников энергии.

Многие клостридии сбраживают ряд специфических аминокислот поодиночке, причем этот тип катаболизма может сочетаться со способностью к осуществлению реакции Стикланда или существовать сам по себе (табл. 22.7). Путь

ТАБЛИЦА 22.7

АМИНОКИСЛОТЫ, СБРАЖИВАЕМЫЕ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ *CLOSTRIDIUM*

Вид	Аминокислоты, сбраживаемые поодиночке										Способность осуществлять реакцию Стикланда
	Аланин	Аргинин	Аспартаг	Цистеин	Глутамат	Гистидин	Лейцин	Лизин	Метионин	Фенилаланин	
<i>C. botulinum</i>										+	+
<i>C. cochlearum</i>					+						—
<i>C. perfringens</i>					+					+	+
<i>C. propionicum</i>	+			+					+	+	—
<i>C. sporogenes</i>		+					+		+	+	+
<i>C. sticklandii</i>		+						+		+	+
<i>C. tetani</i>			+		+	+				+	—
<i>C. tetanomorphum</i>			+	+	+	+				+	—

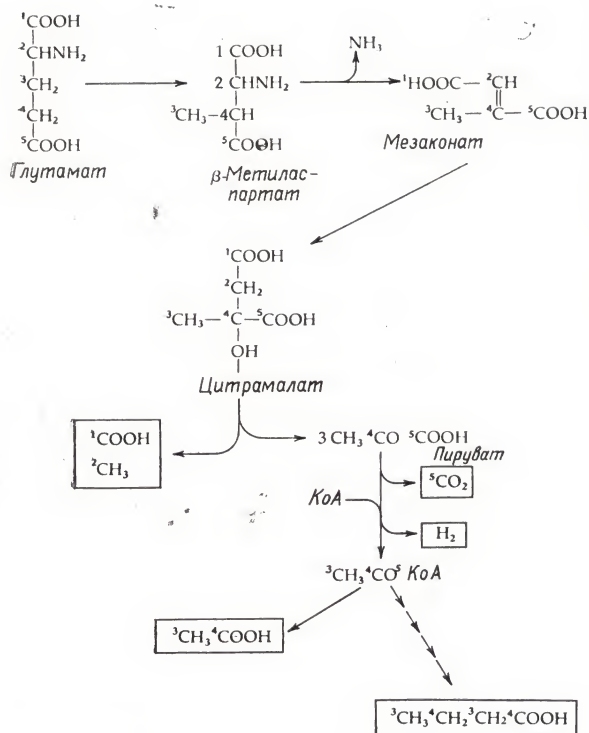


Рис. 22.15. Путь сбраживания глутаминовой кислоты у клостридиев. Атомы углерода в субстрате пронумерованы, чтобы показать их распределение между конечными продуктами (прямоугольники).

диссимиляции глутаминовой кислоты, сбраживаемой многими видами клостридиев, изображен на рис. 22.15. Первое воздействие на глутамат включает перестройку его углеродного скелета и приводит к образованию разветвленной дикарбоновой кислоты цитрамалата, который расщепляется до пирувата и ацетата. Дальнейший путь диссимиляции пирувата биохимически сходен с соответствующим путем при маслянокислом брожении (рис. 22.11). АТФ синтезируется при превращении ацетил-КоА в ацетат.

Многие клостридии, сбраживающие аминокислоты, могут сбраживать и углеводы. Эти субстраты подвергаются типичному маслянокислому сбраживанию. Очевидно, что клостридии, способные сбраживать глутаминовую кислоту и превращать глюкозу в пировиноградную кислоту по пути Эмбдена — Мейергофа, обладают всем набором ферментов для осуществления маслянокислого брожения. Однако многие клостридии, сбраживающие аминокислоты, совершенно неспособны сбраживать углеводы: примерами таких организмов являются *C. tetani* и *C. histolyticum*. Следовательно, имеется широкий спектр бактерий, различающихся по характеру сбраживаемых субстратов, начиная от маслянокислых бактерий с низкой способностью сбраживать аминокислоты

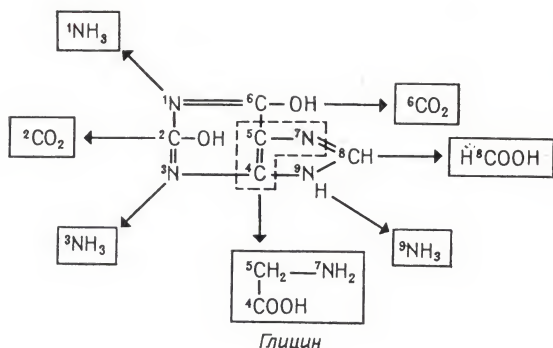


Рис. 22.16. Происхождение некоторых конечных продуктов сбраживания ксантина у клостридий.

или не обладающих такой способностью вообще и кончая такими организмами, как *C. tetani* и *C. histolyticum*, которые неспособны сбраживать углеводы.

Большое число клостридий, сбраживающих аминокислоты, являются протеолитическими организмами и обладают разнообразными протеазами. Часто один организм образует несколько разных гидролитических ферментов этого типа с разной субстратной специфичностью. Для представителей данной группы бактерий, получающих энергию за счет сбраживания аминокислот, протеолиз, конечно, является необходимым первоначальным этапом образования из белков сбраживаемых субстратов. Однако из этого отнюдь не следует, что все клостридии, сбраживающие аминокислоты, являются протеолитическими организмами. Есть и непротеолитические виды, рост которых зависит от наличия в качестве субстратов свободных аминокислот.

СБРАЖИВАНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

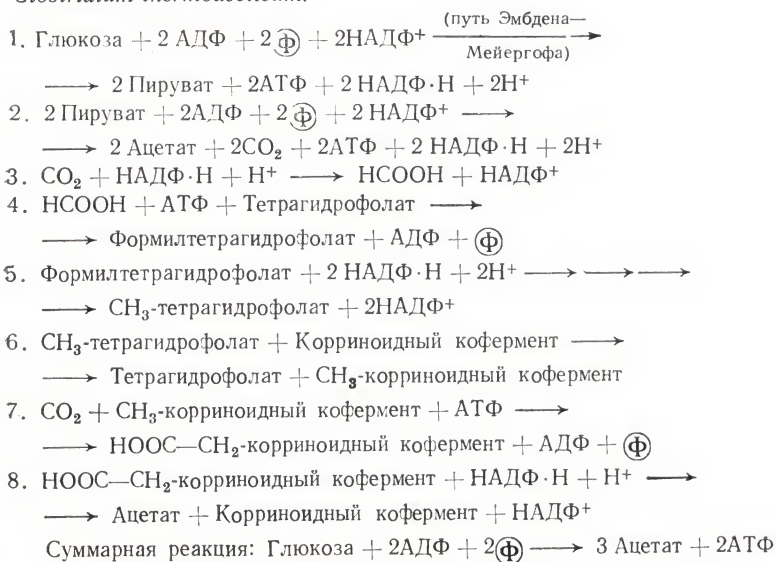
Некоторые клостридии могут получать энергию за счет сбраживания циклических соединений, в частности пуринов, пиримидинов и никотиновой кислоты. Сбраживание пуринов (гуанина, мочевой кислоты, гипоксантина, ксантина) осуществляют *C. acidurici* и *C. cylindrosporum* — виды с высокоспециализированными пищевыми потребностями; они неспособны сбраживать другие субстраты. Продуктами брожения являются уксусная кислота, глицин, муравьиная кислота, CO_2 или другие вещества-предшественники (рис. 22.16). Непосредственно из C_2 -фрагмента можно получить только 1 моль уксусной кислоты на 1 моль сброженного пурина. Однако выход уксусной кислоты часто превышает 1 моль; это свидетельствует о том, что она частично образуется из C_1 -предшественника. Синтез уксусной кислоты из CO_2 является особенностью брожения у некоторых других клостридий, рассматриваемых ниже.

**СБРАЖИВАНИЕ КЛОСТРИДИЯМИ УГЛЕВОДОВ,
КОТОРОЕ НЕ ПРИВОДИТ К ОБРАЗОВАНИЮ
В КАЧЕСТВЕ КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА
МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ**

Ряд клостридиев, использующих в качестве источников энергии углеводы, диссимилирует их с помощью путей, отличных от пути с образованием масляной кислоты. К этим организмам относятся клостридии, сбразживающие целлюлозу; большинство из них высокоспециализированы в отношении субстратов — некоторые виды способны сбразживать только целлюлозу. Продуктами брожения являются этанол, муравьиная, уксусная, молочная и янтарная кислоты.

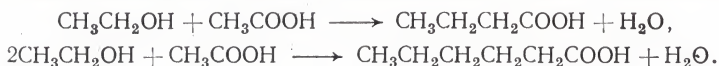
Вид *C. thermoaceticum* сбразживает глюкозу и другие растворимые сахара с образованием в качестве единственного конечного продукта уксусной кислоты. Синтез ее происходит практически количественно: из 1 моля сброженной глюкозы образуется почти 3 моля уксусной кислоты. Ни один из известных путей диссимиляции глюкозы не обеспечивает прямого образования уксусной кислоты с участием всех шести углеродных атомов субстрата. Фактически за счет гликолиза непосредственно из атомов углерода глюкозы образуется только две трети уксусной кислоты; одна треть ацетата синтезируется в результате сложного процесса синтеза из CO_2 с участием тетрагидрофолиевой кислоты и корриноидного кофермента (производное витамина B_{12}) в качестве переносчиков C_1 - и C_2 -фрагментов. Полная последовательность реакции приведена на рис. 22.17.

Рис. 22.17. Реакции, приводящие к превращению глюкозы в ацетат у *Clostridium thermoaceticum*.



СБРАЖИВАНИЕ ЭТАНОЛА И АЦЕТАТА CLOSTRIDIUM KLUYVERI

Наиболее замечательным типом брожения у клостридиев является брожение, осуществляемое *C. kluuyveri*. Этот организм растет только при использовании в качестве источника энергии смеси этанола и уксусной кислоты. Основными органическими продуктами брожения являются две жирные кислоты — масляная и капроновая; кроме того, образуется некоторое количество H_2 . Если пренебречь образованием H_2 , то синтез жирных кислот можно представить двумя уравнениями:



Механизм синтеза АТФ, связанный с этим типом брожения, удалось выяснить совсем недавно; мы опишем его в общих чертах для случая синтеза масляной кислоты.

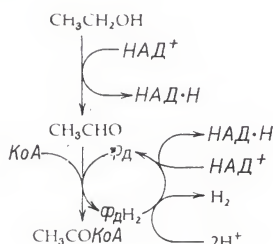
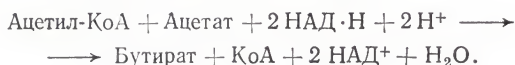


Рис. 22.18. Реакция окисления этанола до ацетил-КоА у *Clostridium kluuyveri*. Фд — ферредоксин.

Этанол дегидрируется в два этапа до ацетил-КоА, причем первичным акцептором при втором дегидрировании является ферредоксин. Восстановленный ферредоксин может передать электрон дальше либо NAD^+ с образованием $NAD \cdot H$, либо протону с образованием H_2 (рис. 22.18). Как и у других клостридиев, синтез масляной кислоты осуществляется затем через цикл реакций, представленный на рис. 22.12 и описываемый следующим уравнением:

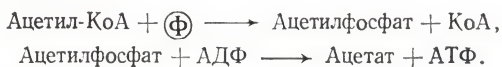


В отсутствие образования H_2 окисление этанола дает, таким образом, как раз столько ацетил-КоА и $NAD \cdot H$, сколько необходимо для синтеза масляной кислоты.

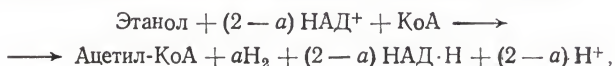


В таких условиях синтез АТФ невозможен. Однако образование H_2 приводит к тому, что забирается часть электронов от окисляемого ацетальдегида, которые пошли бы на восстановление NAD^+ ; в результате этого молярное соотношение между $NAD \cdot H$ и ацетил-КоА, образованными при окислении этанола, становится меньше 2 : 1. Поэтому в масляную кис-

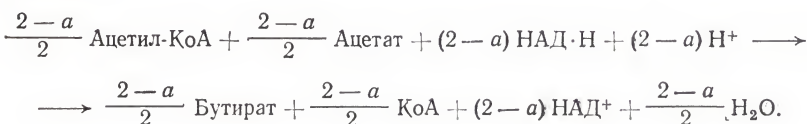
лоту превращается не весь образуемый ацетил-КоА. Некоторая «избыточная» его часть участвует в синтезе АТФ в ходе следующих реакций:



Найдем стехиометрическое соотношение между образованием H_2 и синтезом АТФ. Допустим, что на 1 моль окисленного этанола образуется a молей H_2 . Тогда уравнение, описывающее окисление этанола, можно записать в виде:



а уравнение, описывающее синтез масляной кислоты, — в виде



«Избыточный» ацетил-КоА, не участвующий в синтезе масляной кислоты, составляет $1 - [(2-a)/2]$ моля, или $a/2$ моля. Соответственно на каждый моль образовавшегося H_2 0,5 моля ацетил-КоА принимают участие в синтезе АТФ. Экспериментальное определение баланса этого типа брожения показало, что на 1 моль использованного этанола образуется примерно 0,25 моля H_2 . Выход АТФ при этих условиях составлял, следовательно, примерно $0,25/2 = 0,12$ моля АТФ на 1 моль окисленного этанола.

АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ: РОД *DESULFOTOMACULUM*

Анаэробные спорообразующие бактерии рода *Desulfotomaculum* осуществляют анаэробное дыхание с использованием в качестве конечного акцептора электронов органических субстратов и SO_4^{2-} . Этот род представлен небольшой группой видов, легко отличимых от клостридий по нескольким признакам: они характеризуются гораздо более высоким средним ГЦ-содержанием ДНК, имеют в клетке гемсодержащие пигменты и нуждаются в SO_4^{2-} — конечном акцепторе электронов, что приводит к образованию при их росте большого количества H_2S . Набор окисляемых субстратов весьма ограничен; все виды используют молочную кислоту. Окисление субстратов всегда неполное, что приводит к образованию уксусной кислоты. По характеру своего метаболизма эти организмы являются аналогами не образующих спор облигатных анаэробов рода *Desulfovibrio* (гл. 24).

Образование эндоспор, способность к которому в норме никогда не проявляется при вегетативном росте спорообразующих бактерий, представляет собой чрезвычайно сложный процесс дифференцировки, начинающийся во всей популяции, когда она выходит из экспоненциальной фазы роста и переходит в стационарную фазу. Этот процесс приводит к образованию внутри большинства вегетативных клеток новых клеток, полностью отличающихся от материнских по тонкой структуре, химическому составу и физиологическим свойствам. После высвобождения из материнской клетки эндоспора в норме вступает в долгий период покоя, однако при соответствующих условиях прорастает и развивается в типичную вегетативную клетку. Проблема образования и прорастания эндоспор всесторонне исследовалась многими микробиологами. Мы же ограничимся лишь кратким обзором обширной литературы по этому вопросу. Из соображений удобства большинство экспериментальных работ по эндоспорам проведено с представителями рода *Bacillus*, однако образование и прорастание эндоспор у всех анаэробных спорообразующих бактерий происходит, насколько об этом можно сейчас судить, в принципе одинаковым образом.

ОБРАЗОВАНИЕ ЭНДОСПОРЫ

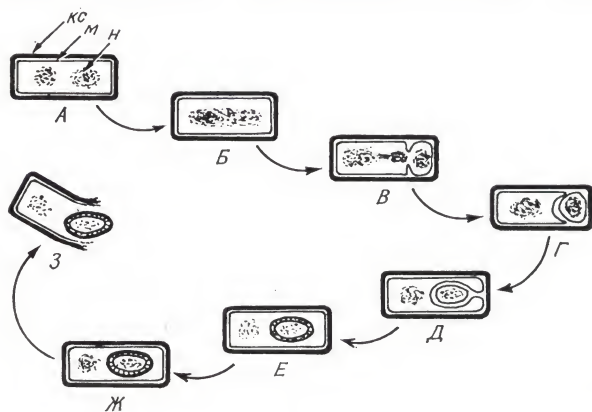
Морфологические изменения, связанные с образованием спор, удалось изучить, наблюдая за этим событием с помощью светового и электронного микроскопов. Результаты этих наблюдений обобщены на рис. 22.19.

В момент перехода культур от экспоненциальной к линейной фазе роста — периоду, непосредственно предшествующему началу споруляции, — каждая клетка содержит два нуклеоида. Эти нуклеониды объединяются, образуя палочковидную структуру. Первым видимым признаком начала спорообразования является возникновение поперечной перегородки около одного из полюсов клетки; эта перегородка отделяет цитоплазму и ДНК меньшей по размеру клетки, которой предстоит превратиться в спору, от остального клеточного содержимого. В отличие от того, как это бывает при обычном делении, за образованием перегородки не следует развития поперечной стенки. Вместо этого мембрана большей клетки быстро обволакивает малую, которая оказывается полностью окруженной цитоплазмой большей клетки. В результате образуется так называемая *проспора*. Фактически проспора представляет собой протопласт с двумя концентрическими слоями обычных мембран: собственной мембраной и мембраной материнской клетки, окружившей ее. На этой стадии процесс развития становится необратимым; можно

Рис. 22.19. Схематическое изображение цитологических изменений, сопровождающих образование эндоспоры у *Bacillus cereus*. А. Вегетативная клетка с двумя нуклеоидами (н). Б. Конденсация нуклеоидов с образованием палочковидной структуры. В. Начало формирования

поперечной перегородки. Г. Завершение формирования поперечной перегородки, в результате чего проспора и ее пуклеоид оказываются изолированными от вегетативной клетки. Д. Образование новой оболочки вокруг проспоры. Е. Завершение образования оболочки. Ж. Созре-

вание споры. З. Высвободившаяся спора, окруженная неплотной наружной оболочкой экзоспориумом. м — клеточная мембрана, кс — клеточная стенка. [Young I. E., Fitz-James P., Chemical and morphological studies of bacteria spore formation, I, J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 467 (1959).]



сказать, что клетка «обязалась» осуществить споруляцию. Под световым микроскопом проспора выглядит как непреломляющая свет область, свободная от гранулярных включений.

Сразу же после «поглощения» проспоры материнской клеткой происходит быстрый синтез и формирование новых структур, окружающих ее. Первым появляется *кортекс*, который развивается между внутренней и наружной мембранами; вскоре после этого поверх наружной мембраны начинает формироваться более электроплотный слой, *оболочка споры*. У бактерий группы *B. cereus* вокруг оболочки образуется еще один, менее плотный и более тонкий слой, *экзоспориум* (рис. 22.20). После завершения формирования оболочки у созревающей споры начинает возрастать показатель преломления. В это время, однако, она еще не термостабильна. Это свойство спора приобретает вскоре после двух основных химических изменений: интенсивного поглощения спорулирующими клетками ионов Ca^{2+} и синтеза больших количеств дипиколиновой кислоты — вещества, отсутствующего в вегетативных клетках. Временной ход изменения показателя преломления, термостабильности и синтеза дипиколиновой кислоты показан на рис. 22.21. В зрелой споре молярное соотношение между дипиколонатом и Ca^{2+} близко к единице. Это свидетельствует о том, что дипиколонат при-

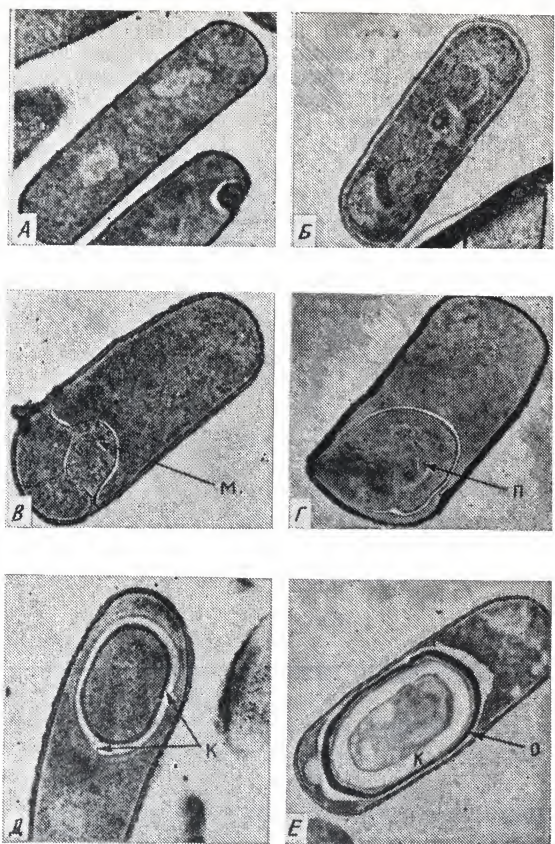


Рис. 22.20. Электронные микрофотографии ультратонких срезов *Bacillus subtilis*, показывающие последовательность структурных изменений, связанных с образованием эндоспории. А. Вегетативная клетка в фазе экспоненциального роста. Б. Объединение нуклеоидов с образованием палочковидной структуры. В. Формирование продольной перегородки, содержащей мезосому (м), около одного из полюсов клетки; перегородка отделяет будущую спору от остальной части клетки. Г. Образование споры (п), целиком окруженной цитоплазмой материнской клетки. Д. Развивающаяся спора окружена кортексом (к). Е. Последняя стадия образования споры: созревшая спора, по-прежнему заключенная в материнскую клетку, окружена теперь и кортексом (к) и оболочкой (о). [Ryter A., Etude morphologique de la sporulation de *Bacillus subtilis*, Ann. Inst. Pasteur, 108 (1965).]

существует в виде Са-хелата. Это соединение составляет от 10 до 15% веса сухой споры и локализовано внутри ее протопласта. Синтез дипикколиновой кислоты является ответвлением от лизиновой части пути биосинтеза аминокислот семейства аспартата (рис. 22.22).

Кортекс состоит в основном из особого пептидогликана, содержащего три повторяющиеся субъединицы (рис. 22.23): мурамовую, не содержащую аминокислот, аланиновую, содержащую только один остаток L-аланина, и тетрапептидную, к которой присоединена последовательность L-Ала-Д-Глу-мезо-ДАП-Д-Ала. Они составляют соответственно 55, 15 и 30% от общего количества субъединиц. Число сшивок между тетрапептидными цепочками мало. Специфичность пептидогликана кортекса проявляется и в том, что *B. subtilis* и *B. sphaericus*, синтезирующие химически различающиеся пептидогликаны клеточных стенок вегетативных форм

Рис. 22.21. Увеличение показателя преломления (кривая I), термостабильности клеток (кривая II) и содержания в них дипиколиновой кис-

лоты (кривая III) при споруляции культуры *Bacillus cereus*. По оси абсцисс отложен возраст культуры в часах. [На- simoto T., Black S. H.,

Gerhardt P., Development of fine structure, thermostability, and dipicolinate during sporogenesis in a bacillus, Can. J. Microbiol., 6, 203 (1960).]

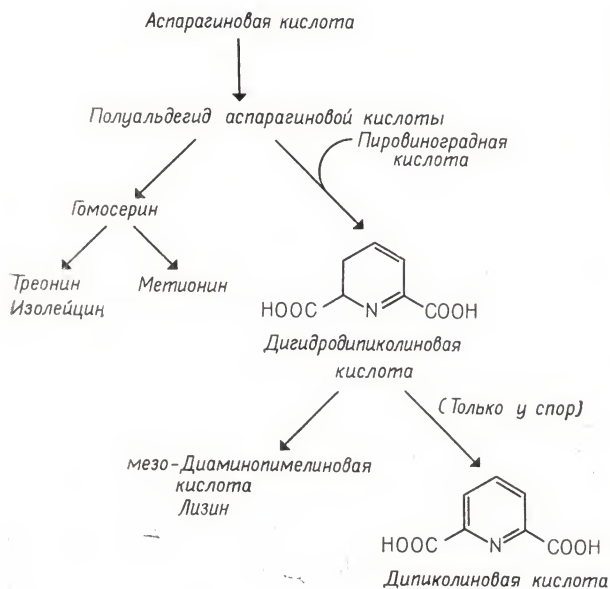
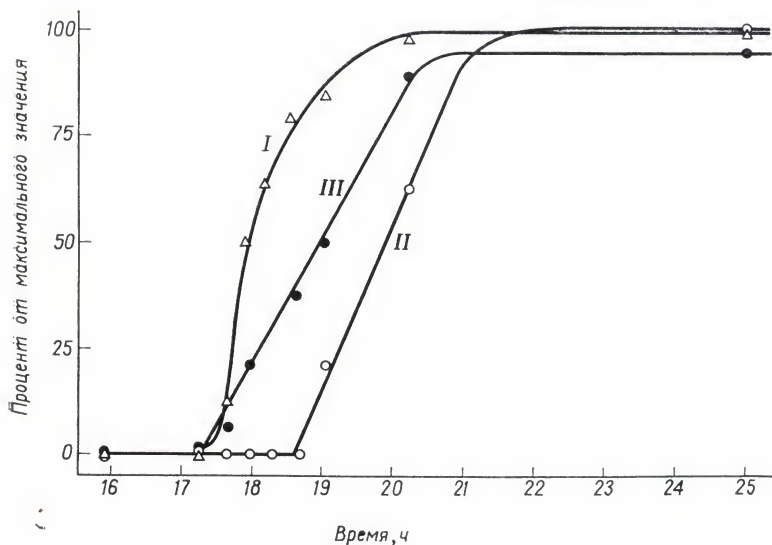
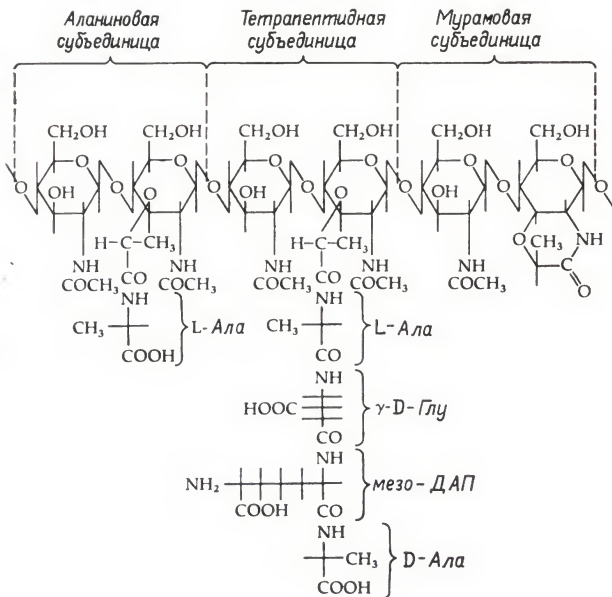


Рис. 22.22. Путь биосинтеза дипиколиновой кислоты. Показана его связь с путями биосинтеза аминокислот треонина, изолейцина, метионина и лизина.

Рис. 22.23. Структурные формулы повторяющихся субъединиц пептидогликана, образующего кортекс споры.



(табл. 22.2), содержат практически одинаковые пептидогликаны кортекса.

Наружная оболочка споры, составляющая от 30 до 60% ее веса, состоит в основном из белков, на долю которых приходится до 80% всех белков споры. Белки оболочки обладают необычно высоким содержанием цистеина и гидрофобных аминокислот и чрезвычайно устойчивы к различным воздействиям, приводящим к растворению большинства белков.

В протопласте зрелой споры содержится очень много дипиколината кальция, а сам протопласт окружен новосинтезированными наружными слоями уникальной химической структуры (кортексом, оболочкой и иногда экзоспориумом). Эти слои по весу составляют весьма значительную часть споры. Высвободившаяся в результате автолиза материнской клетки эндоспора сильно обезвожена, не проявляет заметной метаболической активности и надежно защищена от тепловых и радиационных повреждений, а также от химических и ферментативных воздействий. Она остается в таком криптиобиотическом состоянии до тех пор, пока ряд внешних воздействий не инициирует ее превращение в новую вегетативную клетку.

ДРУГИЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ СО СПОРООБРАЗОВАНИЕМ

Образование эндоспоры — основное, но отнюдь не единственное изменение в спорулирующей клетке. Одно из таких примечательных явлений, свойственное *Bacillus thuringensis*,

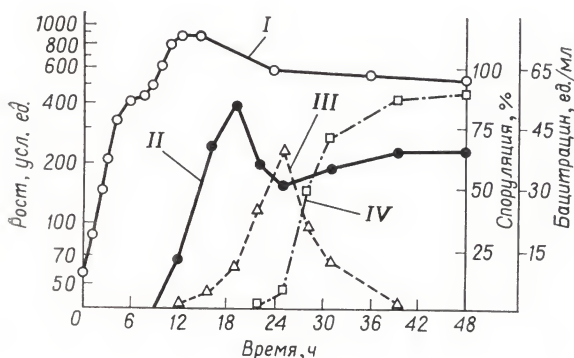
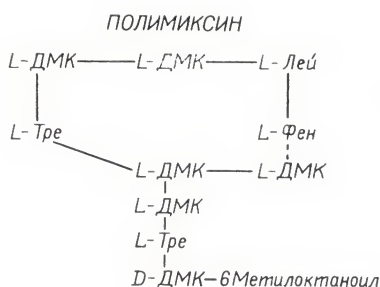
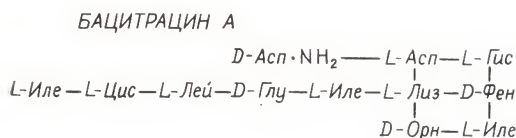
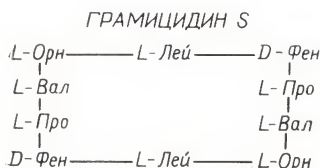
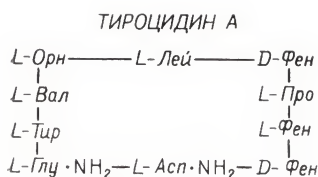


Рис. 22.24. Структурные формулы некоторых антибиотиков, синтезируемых спорообразующими бактериями в процессе споруляции.

Рис. 22.25. Временной ход процессов роста (кривая I), синтеза бацитрацина (II) и образования спорангия (III) и свободных спор (IV) в культуре *Bacillus licheniformis*.

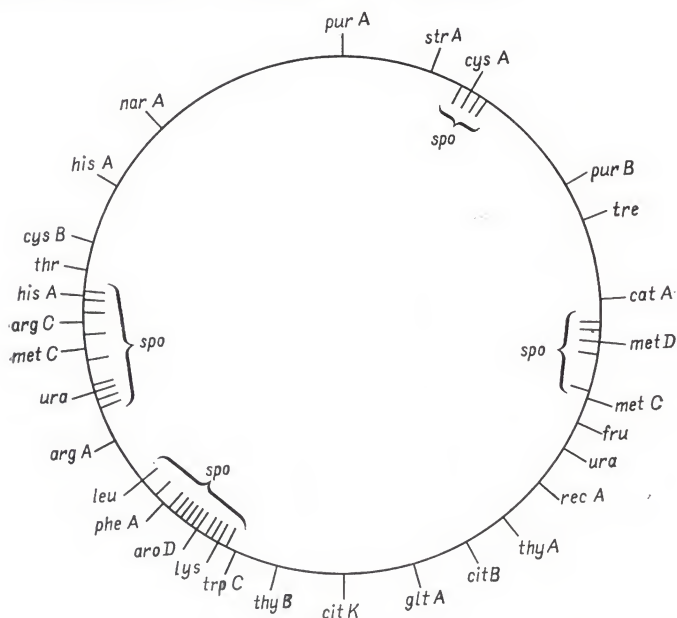
уже обсуждалось ранее (стр. 192). Заключается оно в образовании по соседству с каждой спорой бипирамидального белкового кристаллика. Описаны также разнообразные некристаллические околоспоровые структуры определенной формы у других видов *Bacillus* и у *Clostridium*.

У многих спорообразующих бактерий, как аэробных, так и анаэробных, начало споруляции сопровождается синтезом особого класса антимикробных веществ — пептидов с мол. весом около 1400. Многие из этих пептидных антибиотиков охарактеризованы и химически, и функционально. Их можно разделить на три класса: эдены — линейные основные пептиды, подавляющие синтез ДНК, бацитрацины — циклические пептиды, подавляющие синтез клеточных стенок, и груп-

Рис. 22.26. Карта сцепления *Bacillus subtilis*, на которой показано от-

носительное расположение генов (*spo*), контролирующих

стадии процесса спорообразования.



пу грамицидин — полимиксин — тироцидин, состоящую из линейных и циклических пептидов, которые влияют на структурные и функциональные свойства мембран. Как видно из рис. 22.24, многие из них содержат аминокислоты в D-конфигурации (например, D-фенилаланин), аминокислоты, не встречающиеся в белках (например, диаминомасляную кислоту, орнитин), а также компоненты, не являющиеся аминокислотами (например, полиамин спермидин, присутствующий в эдеинах). Пептидные антибиотики синтезируются на относительно ранних этапах образования спор (рис. 22.25) с помощью особого механизма полимеризации, при котором последовательность аминокислот определяется белком-ферментом; ни тРНК, ни рибосомы в этом процессе не участвуют. Роль указанных соединений в споруляции неизвестна, но предполагается, что они могут регулировать различные стадии процесса дифференцировки.

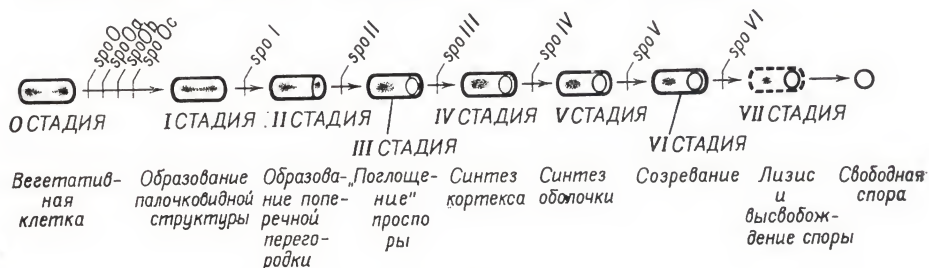
ГЕНЕТИКА И РЕГУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СПОР

Генетика спорообразования исследовалась в основном у *Bacillus subtilis*, вида, способного к обмену генетическим материалом в результате трансформации или трансдукции. Карта сцепления, построенная для *B. subtilis*, выявила положение многих генов, определяющих споруляцию. Хотя эти гены

Рис. 22.27. Схематическое изображение процесса споруляции у *Ba-*

cillus subtilis, показывающее стадии, на которых различные генетиче-

ские повреждения в генах *sro* останавливают процесс.



локализованы в разных участках карты, они расположены в основном группами, захватывающими примерно пять сегментов хромосомы (рис. 22.26). Анализ фенотипического выражения мутаций в так называемых *sro*-генах (рис. 22.27) четко выявляет последовательную природу процесса споруляции. Полное число локусов, детерминирующих образование споры, до сих пор неизвестно, но оно заведомо не меньше 50. Поскольку гены, определяющие процесс споруляции, в норме не проявляют себя при вегетативном росте спорообразующих бактерий, следует допустить, что они находятся под контролем системы репрессии, которая снимается при завершении вегетативного роста. Массовую споруляцию можно вызвать экспериментально перенесением клеток растущей культуры в среду, не содержащую азота. Добавление источников азота в течение 2—3 ч после такого переноса приводит к восстановлению вегетативного роста; спустя же определенное время клетки необратимо «настраиваются» на спорообразование: добавление источников азота уже не приводит к восстановлению вегетативного роста, и популяция продолжает споруляцию. В норме при вегетативном росте споруляция почти полностью подавляется, однако в некоторых случаях этого не происходит. В синтетических средах, где скорость деления клеток относительно мала, аэробные спорообразующие бактерии в ходе роста дают небольшое число спор. Эти споры образуются с постоянной скоростью, так что параллельно увеличению числа вегетативных клеток увеличивается и число спор. Следовательно, при таких условиях имеется определенная вероятность перехода вегетативной клетки на путь споруляции. Еще более яркий пример необязательности полного подавления роста для инициации споруляции получен в опытах по выращиванию культуры *B. megaterium* в хемостате. Если питательным веществом, лимитирующим скорость роста, служит глюкоза, то вегетативную популяцию при скоростях деления меньше 0,5 дел./ч поддерживать не удастся. Происходит массовая споруляция, и популяция вымывается из ростовой камеры.

В особых случаях у спорообразующих бактерий можно инициировать процесс, известный под названием *микроциклический спорогенез*. Если после прорастания споры и образования вегетативной клетки создать условия, неблагоприятные для поддержания вегетативного роста, происходит укорочение клеточного цикла, и только что возникшие вегетативные клетки немедленно переходят на путь споруляции. Это приводит к максимально простому клеточному циклу:

Спора → Вегетативная клетка → Спорангий → Спора.

АКТИВАЦИЯ, ПРОРАСТАНИЕ И ДАЛЬНЕЙШЕЕ РАЗВИТИЕ ЭНДОСПОР

Только что сформировавшиеся эндоспоры остаются, как правило, покоящимися даже в условиях, оптимальных для прорастания. Из состояния покоя их можно вывести рядом воздействий, приводящих к так называемой *активации*. Вероятно, наиболее общим способом активации спор является *тепловая обработка* — прогрев спор в течение нескольких часов при высокой сублетальной температуре, например 65 °С. Тепловая активация не сопровождается никакими заметными изменениями спор; она просто создает предпосылки для их последующего прорастания при условиях, благоприятствующих этому процессу. Более того, тепловая активация обратима: при переносе спор на несколько дней в условия с более низкой температурой индуцированная способность к прорастанию снижается. Гораздо более медленная активация происходит при хранении спор как при относительно низкой температуре (5 °С), так и в сухом состоянии. Эта активация необратима; по мере хранения доля спор в популяции, способных к прорастанию, возрастает.

Когда активированные споры помещают в благоприятные условия, происходит их прорастание. Процесс протекает очень быстро и проявляется в резком снижении показателя преломления спор, потере устойчивости их к нагреванию и другим вредным воздействиям, а также восстановлении метаболической активности, о чем свидетельствует внезапно возникающее дыхание. Эти процессы сопровождаются выделением в растворенном виде до 30% (по весу) веществ споры. Выделения состоят в основном из дипиколината кальция, высвобождающегося из протопластов спор, и фрагментов пептидогликана кортекса. Кортекс быстро разрушается, и остается только наружная оболочка споры. Для прорастания активированной споры необходим химический пусковой механизм; роль инициаторов этого процесса играют самые разнообразные вещества, включая L-аланин, рибозиды (аденозин, инозин), глюкозу, дипиколинат кальция и различные неорганические анионы и катионы. Специфические условия, необходимые для прорастания спор, часто меняются от вида к виду; для получения максимальной эффективности иногда



Рис. 22.28. Созревание спор у *Bacillus polymyxa* (А) и *B. circulans* (Б); окрашенные препараты (×5260). (С любезного разрешения Робинсу и Хеннея.)

необходимо сочетание нескольких веществ. Кроме того, прорастание спор можно вызвать, подвергая их физическим воздействиям, вызывающим эрозию или образование трещин в оболочке.

Процесс прорастания, по-видимому, не сопровождается синтезом макромолекул. Появление метаболической активности обусловлено активацией в протопласте споры предсуществующих, но неактивных до этого ферментов. Если спора прорастает в среде, не содержащей питательных веществ, необходимых для вегетативного роста, дальнейшего развития споры не происходит; при наличии же питательных веществ, необходимых для синтеза макромолекул, прорастающая спора превращается в вегетативную клетку. При этом сначала спора набухает, а вслед за этим быстро образуется стенка вегетативной клетки, нижний слой которой, окружающий протопласт споры, может присутствовать уже во время прорастания. Новообразованная вегетативная клетка выходит из оболочки споры (рис. 22.28), удлиняется и приступает к первому вегетативному делению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

I. Спорообразующие бактерии

Книги

Smith N. R., Gordon R. E., Clark F. E., 1952, Aerobic Spore-forming Bacteria, Agr. Monograph 16, Washington, D. C., U.S. Department of Agriculture.

Обзоры и оригинальные работы

216 Barker H. A. (1961), Fermentation of Nitrogenous Organic Compounds, in The Bacteria, I. C. Gunsalus and R. Y. Stanier (eds.), 2, 151.

- Campbell L. L., Postgate J. R. (1965), Classification of the Spore-Forming Sulfate-Reducing Bacteria, *Bact. Revs.*, **29**, 359.
- Cummins C. S., Johnson J. L. (1971), Taxonomy of the Clostridia: Wall Composition and DNA Homologies in *Clostridium butyricum* and Other Butyric Acid-Producing Clostridia, *J. Gen. Microbiol.*, **67**, 33.
- Hungate R. E. (1950), The Anaerobic Mesophilic Cellulolytic Bacteria, *Bact. Rev.*, **14**, 1.
- Kaltwasser H. (1971), Studies on the Physiology of *Bacillus fastidiosus*, *J. Bact.*, **107**, 780.
- Knight B. C. J. G., Proom H. (1950), A Comparative Study of the Nutrition and Physiology of Mesophilic Species in the Genus *Bacillus*, *J. Gen. Microbiol.*, **4**, 508.
- Mead G. C. (1971), The Amino Acid-Fermenting Clostridia, *J. Gen. Microbiol.*, **67**, 47.
- Perkins W. E. et al. (1965), Symposium on Clostridia, *J. Appl. Bact.*, **28**, 1—152.
- Rogoff M. H., Yousten A. A. (1969), *Bacillus thuringiensis*: Microbiological Considerations, *Ann. Rev. Microbiol.*, **23**, 357.
- Schoberth S., Gottschalk G. (1969), Considerations on the Energy Metabolism of *Clostridium Kluyveri*, *Arch. Mikrobiol.*, **65**, 318.
- Wiley W. R., Stokes J. L. (1963), Effect of pH and Ammonium Ions on the Permeability of *Bacillus pasteurii*, *J. Bact.*, **86**, 1152.
- Wolf J., Barker A. N. (1968), The Genus *Bacillus*: Aids to the Identification of Its Species, in *Identification Methods for Microbiologists*, B. M. Biffs and D. A. Shapton (eds.), **1B**, 93, New York, Academic Press.

II. Эндоспора

Книги

- Gould G. W., Hurst A. (eds.), 1969, *The Bacterial Spore*, New York, Academic Press.
- Halvorsen H. O., Hanson R., Campbell L. L. (eds.), 1972, *Spore*, V. American Society of Microbiology, Washington, D. C.

Обзоры и оригинальные работы

- Coote J. G., Mandelstam J. (1973), Use of Constructed Double Mutants for Determining the Temporal Order of Expression of Sporulation Genes in *Bacillus subtilis*, *J. Bact.*, **114**, 1254.
- Gould G. W., Dring G. J. (1974), Mechanisms of Spore Heat Resistance, *Adv. Microb. Physiol.*, **11**, 137.
- Holt S. C., Leadbetter E. R. (1969), Comparative Ultrastructure of Selected Aerobic Spore-Forming Bacteria: A Freeze-Etching Study, *Bact. Rev.*, **33**, 346.
- Hranueli K., Piggot P. J., Mandelstam J. (1974), Statistical Estimate of the total Number of Operons Specific for *Bacillus subtilis* Sporulation, *J. Bact.*, **119**, 684.
- Kurahashi K. (1974), Biosynthesis of Small Peptides, *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, 445.
- Schaeffer P. (1969), Sporulation and the Production of Antibiotics, Exoenzymes and Exotoxins, *Bact. Revs.*, **33**, 48.

23 ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ: АКТИНОМИЦЕТНАЯ ЛИНИЯ

Среди прокариот мицелиальный рост ограничен грамположительными бактериями и характерен для организмов, называемых актиномицетами. Некоторые из этих организмов, эуактиномицеты, развиваются исключительно в виде мицелия и размножаются путем образования одноклеточных спор, формирующихся по одной или цепочками на верхушках гиф. Эуактиномицеты представляют большую и сложную группу, включающую много родов, которые различаются главным образом по своему строению и особенностям развития¹. На рис. 23.1 схематически изображены некоторые способы их роста.

У второй группы, называемой *проактиномицетами*, мицелиальный тип развития имеет временный и часто ограниченный характер; специализированные споры не образуются, а размножение происходит преимущественно путем фрагментации мицелия на короткие, палочковидные клетки. Проактиномицеты смыкаются с большой группой одноклеточных организмов, размножающихся бинарным делением и носящих собирательное название *коринеформные бактерии*. Для этих организмов характерна неправильная и изменчивая форма клеток; обычно клетки имеют конусообразную и булаво-видную форму, но в цикле развития часто проходят кокковидную стадию.

Наконец, с актиномицетной линией связаны, по-видимому, некоторые грамположительные одноклеточные бактерии, не образующие эндоспор и отличающиеся от группы коринебактерий правильной формой клеток. К ним относятся молочнокислые бактерии и микрококки.

В подвижном состоянии представители актиномицетной линии имеют жгутики. Но такое состояние наблюдается довольно редко, хотя и встречается у отдельных представителей всех вышеописанных групп. Эуактиномицеты в большинстве своем бывают обычно неподвижными, однако отдельные роды образуют подвижные споры.

Для удобства последующего обсуждения представители актиномицетной линии разделены на три основные группы (табл. 23.1). Группа I включает одноклеточные молочнокислые бактерии и микрококки; группа II — коринеформные бактерии и проактиномицеты; группа III — эуактиномицеты.

¹ В смысловом отношении термин *эуактиномицеты* близок названию «высшие формы актиномицетов» в понимании Н. А. Красильникова. [См. Н. А. Красильников, Лучистые грибки (высшие формы). — М.: Наука, 1970]. — *Прим. ред.*

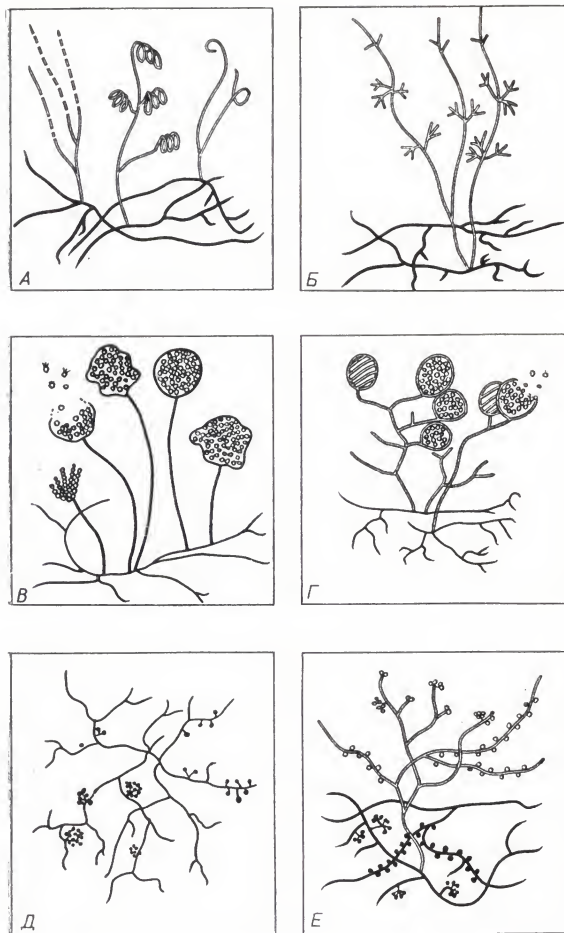


Рис. 23.1. Схема, показывающая характер развития нескольких родов актиномицетов. У некоторых родов споры образуются на воздушном мицелии, развивающемся на поверхности первичного (субстратного) мицелия. Воздушный мицелий (там, где он имеется) изображен светло-серым. (Gross T., Goodfellow M., Taxonomy and Classification of the Actinomycetes, in Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance, Sykes G., Skinner F. A., eds., New York, Academic Press, 1973.)

В рамках этой главы невозможно описать все имеющиеся роды, поэтому для рассмотрения выбраны те, которые перечислены в табл. 23.1.

СРЕДНИЙ НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ДНК

В целом нуклеотидный состав ДНК организмов, относящихся к актиномицетной линии, изменяется в широких пределах (табл. 23.2). Однако внутри каждой группы, кроме нескольких особых случаев, наблюдается значительно более узкий диапазон варируемости. У большинства представителей группы I в ДНК обнаруживается низкое содержание ГЦ. Исключением является род *Micrococcus*, у которого эти величины находятся вблизи верхнего предела шкалы ГЦ. Напротив, в группе III содержание ГЦ характеризуется высо-

ТАБЛИЦА 23.1

ОСНОВНЫЕ ГРУППЫ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ¹

Группа I.		Одноклеточные палочки или сферические клетки правильной формы; размножаются бинарным делением
		Характерные роды
	{	<i>Streptococcus</i>
Молочнокислые бактерии		<i>Leuconostoc</i>
		<i>Pediococcus</i>
		<i>Lactobacillus</i>
	{	<i>Staphylococcus</i>
Микрококки		<i>Micrococcus</i>
		<i>Sarcina</i>
<hr/>		
Группа II.		Одноклеточные формы, у которых наблюдается тенденция к образованию мицелия или клеток с изменчивой или неправильной формой; размножаются путем фрагментации мицелия
		Характерные роды
	{	<i>Corynebacterium</i>
Коринеформные бактерии		<i>Arthrobacter</i>
		<i>Propionibacterium</i>
	{	<i>Bifidobacterium</i>
Проактиномицеты		<i>Actinomyces</i>
		<i>Mycobacterium</i>
		<i>Nocardia</i>
		<i>Geodermatophilus</i>
<hr/>		
Группа III.		Единственной формой вегетативного развития является мицелий; размножение происходит путем образования специализированных спор
		Характерные роды
	{	<i>Streptomyces</i>
Эуактиномицеты		<i>Micromonospora</i>
		<i>Actinoplanes</i>
		<i>Streptosporangium</i>
		<i>Thermoactinomyces</i>

¹ За исключением одноклеточных бактерий, образующих эндоспоры.

кой величиной; единственное исключение представляет *Thermoactinomyces*, отличающийся от всех других эуактиномицетов также и по типу спорообразования (см. стр. 254). У бактерий группы II ДНК имеет высокое содержание ГЦ, хотя диапазон изменения несколько шире, чем в группе III.

СТРОЕНИЕ ПЕПТИДОГЛИКАНА

Почти у всех грамотрицательных прокариот пептидогликан клеточной стенки имеет одну и ту же основную химическую структуру, схематически показанную на рис. 23.2. Такой преобладающий тип пептидогликана содержит мезо-диаминопимелиновую кислоту (мезо-ДАП), находящуюся в положе-

Рис. 23.2. Первичная структура пептидогликана типа А, встречающегося в клеточных стенках некоторых организмов актиномицетной линии. Сокращения: Г — N-ацетилглюкозамин; М — N-ацетилмурамовая кислота; L(D)-Ала — L(D)-

аланин; D-Глу — D-глутаминовая кислота; мезо-ДАП — мезо-диаминопимелиновая кислота. Основные изменения этой структуры, встречающиеся в пептидогликанах, образуемых представителями актиномицетной линии организ-

мов, касаются природы диаминокислоты в положении 3, наличия или отсутствия межпептидного мостика, а также положения поперечной связи между соседними тетрапептидами (3,4- или 2,4-связи). Более подробные данные приведены в табл. 23.3.

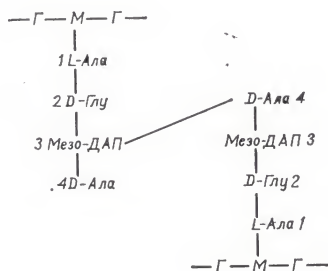


ТАБЛИЦА 23.2

ПРЕДЕЛЫ ИЗМЕНЕНИЙ СРЕДНЕГО НУКЛЕОТИДНОГО СОСТАВА ДНК У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АКТИНОМИЦЕТНОЙ ЛИНИИ

		Содержание ГЦ, мол. %	
Группа I			
Молочнокислые бактерии	{	<i>Streptococcus</i>	33—44
		<i>Leuconostoc</i>	38—44
		<i>Pediococcus</i>	34—44
		<i>Lactobacillus</i>	35—51
Микрококки	{	<i>Staphylococcus</i>	30—40
		<i>Micrococcus</i>	66—75
		<i>Sarcina</i>	29—31
Группа II			
Коринеформные бактерии	{	<i>Corynebacterium</i>	57—60
		<i>Arthrobacter</i>	60—72
		<i>Propionibacterium</i>	59—66
Проактиномицеты	{	<i>Bifidobacterium</i>	57—64
		<i>Actinomyces</i>	60—63
		<i>Mycobacterium</i>	62—70
		<i>Nocardia</i>	60—72
Группа III			
Эуактиномицеты	{	<i>Streptomyces</i>	69—73
		<i>Micromonospora</i>	71—73
		<i>Actinoplanes</i>	71—76
		<i>Streptosporangium</i>	69—71
		<i>Thermoactinomyces</i>	44—55

нии 3 пептидной цепи; соседние пептидные цепи непосредственно соединены поперечными связями, образующимися между свободной аминогруппой мезо-ДАП и свободной карбоксильной группой D-аланина (3,4-связь). Аналогичные пептидогликаны присутствуют также и у некоторых представителей актиномицетной линии; однако у этих организмов обнаружено еще и очень большое число (почти 60) других типов пептидогликанов. Основные различия между ними касаются природы диаминокислоты в положении 3, наличия, числа и природы дополнительных аминокислот, образующих межпептидные мостики, а также положения поперечной связи между пептидными цепями. В табл. 23.3 суммированы данные о распространении основных вариантов структур пепти-

ТАБЛИЦА 23.3

РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСНОВНЫХ ТИПОВ ПЕПТИДОГЛИКАНОВ
У ОРГАНИЗМОВ АКТИНОМИЦЕТНОЙ ЛИНИИ

А. Мезо-ДАП в положении 3; соседние пептидные цепи соединены непосредственно поперечной связью, образующейся между аминокислотными остатками в положениях 3 и 4

Группа I	Группа II	Группа III
<i>Lactobacillus</i> (некоторые виды)	<i>Corynebacterium</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Nocardia</i> <i>Arthrobacter</i> (некоторые виды) <i>Propionibacterium</i> (некоторые виды) <i>Geodermatophilus</i>	<i>Micromonospora</i> <i>Actinoplanes</i> <i>Thermoactinomyces</i>

Б. L-лизин в положении 3; межпептидный мостик образуется с участием аминокислотных остатков в положениях 3 и 4

Группа I	Группа II	Группа III
<i>Streptococcus</i> <i>Pediococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Micrococcus</i> <i>Lactobacillus</i> (некоторые виды)	<i>Bifidobacterium</i> (некоторые виды) <i>Arthrobacter</i> (некоторые виды)	Отсутствует

В. L,L-ДАП в положении 3; межпептидный мостик образуется с участием аминокислотных остатков в положениях 3 и 4

Группа I	Группа II	Группа III
Отсутствует	<i>Arthrobacter</i> (некоторые виды) <i>Propionibacterium</i> (некоторые виды)	<i>Streptomyces</i>

Г. L-орнитин в положении 3; межпептидный мостик образуется с участием аминокислотных остатков в положениях 3 и 4

Группа I	Группа II	Группа III
<i>Lactobacillus</i> (некоторые виды)	<i>Bifidobacterium</i> (некоторые виды)	Отсутствует

Д. В положении 3 могут находиться разные аминокислоты; межпептидный мостик образуется с участием диаминокислоты, связанной с карбоксильными группами D-глутамата в положении 2 и D-аланина в положении 4

Группа I	Группа II	Группа III
Отсутствует	<i>Arthrobacter</i> (некоторые виды) Другие коринеформные бактерии	Отсутствует

догликана среди организмов актиномицетной линии. Эти данные свидетельствуют о наличии определенных таксономических корреляций. Для группы I, за исключением немногих видов *Lactobacillus*, характерен пептидогликан типа Б. Эуактиномицеты синтезируют пептидогликаны типа А или типа В. В группе II изменчивость структуры пептидогликана особенно велика, причем среди представителей коринеформной группы встречаются многообразные типы пептидогликанов.

ДИССИМИЛЯЦИЯ И ОТНОШЕНИЕ К КИСЛОРОДУ

Бактерии актиномицетной линии являются хемогетеротрофами, осуществляющими аэробное дыхание или брожение (табл. 23.4). Аэробы с чисто дыхательным типом метаболизма, который характерен почти для всех эуактиномицетов, встречаются во всех трех подгруппах. Способность к брожению наблюдается у многих представителей групп I и II. Основными сбраживаемыми субстратами являются углеводы; в большинстве случаев (за исключением *Sarcina*) H_2 не образуется, а в качестве главного конечного продукта накапливается молочная или пропионовая кислота. У таких организмов, способных к брожению, отношение к O_2 варьирует. Бактерии рода *Staphylococcus* (группа I) представляют собой факультативные анаэробы, которые могут синтезировать АТФ либо путем аэробного дыхания, либо путем брожения; к аналогичному физиологическому типу относится и род *Corynebacterium* (группа II). Молочнокислые бактерии, входящие в группу I, лишены дыхательной системы и поэтому образуют АТФ исключительно за счет брожения, однако они могут хорошо развиваться в присутствии воздуха. Другие представители групп I и II имеют чисто бродильный тип об-

ТАБЛИЦА 23.4

СПОСОБЫ ОБРАЗОВАНИЯ АТФ И ОТНОШЕНИЕ К КИСЛОРОДУ
У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АКТИНОМИЦЕТНОЙ ЛИНИИ

	Образование АТФ в результате		Отношение к кислороду
	дыхания	брожения	
Группа I			
Молочнокислые бактерии	--	+	Факультативные анаэробы
<i>Staphylococcus</i>	+	+	То же
<i>Micrococcus</i>	+	—	Облигатные аэробы
<i>Sarcina</i>	—	+	Аэротолерантные анаэробы
Группа II			
<i>Corynebacterium</i>	+	+	Факультативные анаэробы
<i>Arthrobacter</i>	+	—	Облигатные аэробы
<i>Propionibacterium</i>	—	+	Аэротолерантные анаэробы
<i>Bifidobacterium</i>	—	+	То же
<i>Actinomyces</i>	—	+	» »
<i>Mycobacterium</i>	+	—	Облигатные аэробы
<i>Nocardia</i>	+	—	То же
Группа III			
Эуактиномицеты	+	—	» »

мена (*Sarcina*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*) и растут только в отсутствие воздуха или при очень низком парциальном давлении кислорода. Молекулярный кислород подавляет рост всех этих организмов, но не является для них токсичным. Следовательно, их выращивание не требует использования специальных методов, предотвращающих даже кратковременный контакт клеток с воздухом. Методы подобного рода необходимы для культивирования облигатно анаэробных неспоровых бактерий, которые рассматриваются в гл. 24, а также для культивирования многих клостридиев. Таким образом, анаэробные организмы, относящиеся к актиномицетной линии, представляют особую физиологическую категорию устойчивых к кислороду или *аэротолерантных* анаэробов.

ГРУППА I: МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ

Молочнокислые бактерии — это неподвижные палочковидные или сферические организмы (рис. 23.3), объединяемые необычным сочетанием метаболических свойств и потребностей в питательных веществах. Они обязаны своим названи-

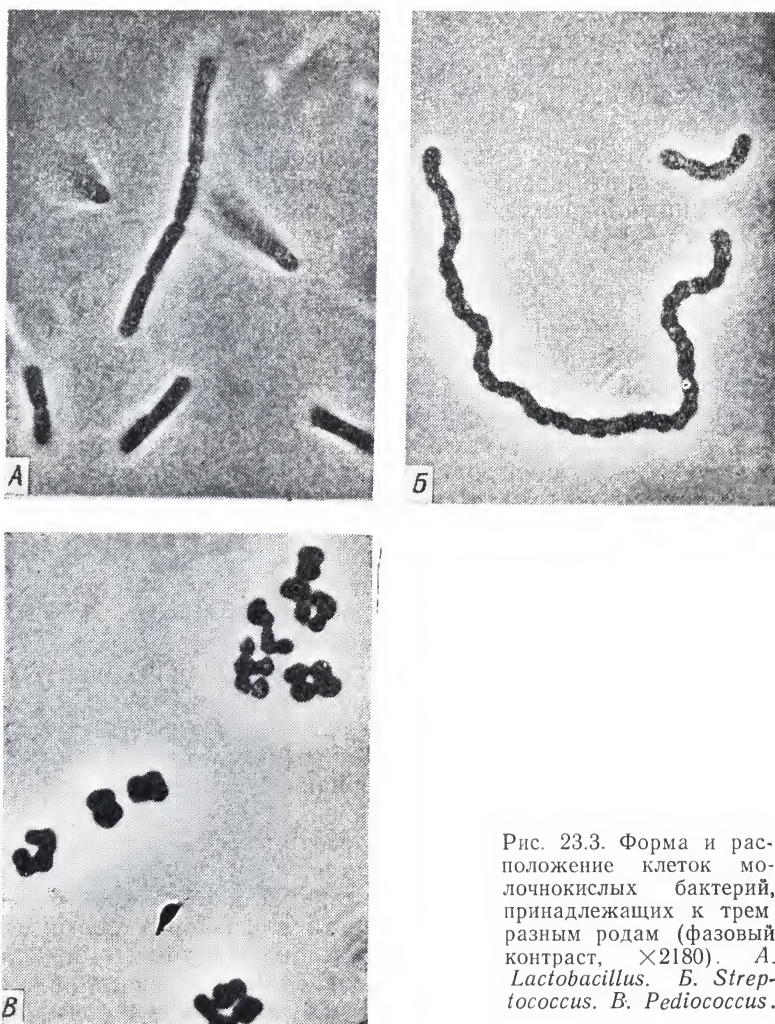


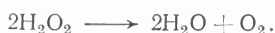
Рис. 23.3. Форма и расположение клеток молочнокислых бактерий, принадлежащих к трем разным родам (фазовый контраст, $\times 2180$). А. *Lactobacillus*. Б. *Streptococcus*. В. *Pediococcus*.

ем тому факту, что синтезируют АТФ в результате сбраживания углеводов с образованием молочной кислоты в качестве основного (а иногда и единственного) конечного продукта.

Все молочнокислые бактерии — факультативные анаэробы и хорошо растут на поверхности твердой среды в контакте с воздухом. Однако они неспособны синтезировать АТФ за счет дыхания, что отражает отсутствие у них цитохромов и других ферментов, содержащих гем. Хотя молочнокислые бактерии могут в ограниченной степени окислять некоторые органические соединения под действием флавопротеиновых ферментов (оксидаз или пероксидаз), такое окисление не

сопровождается образованием АТФ. Соответственно наличие или отсутствие воздуха не влияет на экономический коэффициент молочнокислых бактерий, так как в обоих случаях АТФ образуется в результате анаэробной диссимилиации сахаров.

Одно из следствий неспособности молочнокислых бактерий синтезировать гемопротенды заключается в том, что они лишены каталазы и поэтому не могут разлагать H_2O_2 в реакции



Отсутствие каталазной активности, которое можно легко обнаружить благодаря тому, что при смешивании клеток с каплей разбавленной H_2O_2 не происходит выделения O_2 , является одним из наиболее полезных диагностических тестов для распознавания этих организмов, поскольку они представляют собой фактически единственный тип бактерий, лишенных каталазы, но способных расти в присутствии воздуха.

Неспособность молочнокислых бактерий синтезировать гемопротенды коррелирует с их неспособностью синтезировать гемин — порфирин, который служит простетической группой этих ферментов. Однако некоторые молочнокислые бактерии приобретают каталазную активность при выращивании в присутствии источника гемина (например, в среде, содержащей эритроциты). По-видимому, эти виды синтезируют белок, который может соединяться с экзогенно поставляемым гемом с образованием фермента, обладающего свойствами каталазы.

Неспособность синтезировать гемин — только одно из проявлений *чрезвычайно ограниченных синтетических возможностей* молочнокислых бактерий. Все эти организмы обнаруживают сложные потребности в факторах роста; они неизменно нуждаются в витаминах группы В и, за одним исключением (*Streptococcus bovis*), в значительном числе аминокислот. Потребности многих молочнокислых бактерий в аминокислотах гораздо шире соответствующих потребностей высших животных. Вследствие таких сложных требований к питательным веществам молочнокислые бактерии обычно культивируют на средах, содержащих пептон, дрожжевой экстракт или другие гидролизаты растительного или животного материала. В качестве источника энергии среды должны включать сбраживаемый углевод.

Даже при выращивании на очень богатых средах колонии молочнокислых бактерий (рис. 23.4) всегда остаются сравнительно небольшими (не больше чем несколько мм в диаметре). Они никогда не бывают пигментированными и вследствие отсутствия цитохромов имеют весьма характерный известково-белый цвет. Небольшой размер колоний этих бактерий

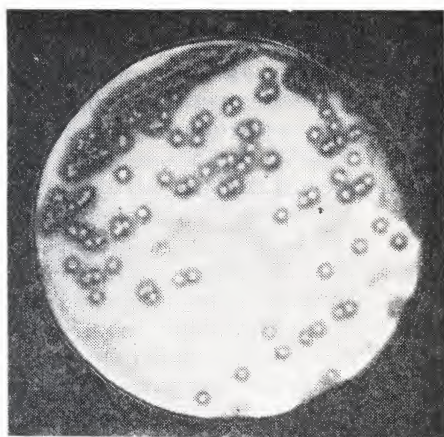
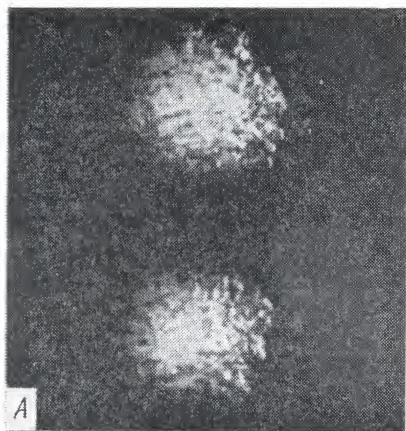


Рис. 23.5. Колонии *Streptococcus*, растущие на агаризованной среде, содержащей суспензию меда. Образовавшаяся молочная кислота растворила карбонат кальция, что привело к появлению вокруг каждой колонии зон просветления.

Рис. 23.4. Колонии молочнокислых бактерий ($\times 9,6$). А. *Lactobacillus plantarum*. Б. *Streptococcus lactis*.

объясняется главным образом низким экономическим коэффициентом роста, а это в свою очередь обусловлено тем, что они существуют исключительно за счет брожения. Некоторые виды могут давать необычно крупные колонии при росте на средах, содержащих сахарозу, в результате образования из нее больших количеств внеклеточных полисахаридов (декстрана или левана); в этом особом случае значительную часть объема колонии занимает полисахарид. Так как декстраны и леваны синтезируются только из сахарозы, рассматриваемые виды дают типичные мелкие колонии, если их выращивают на средах, содержащих любой другой утилизируемый сахар. При выделении молочнокислых бактерий сферической формы, которые могут расти в среде с исходным рН, равным 7 или выше, полезно включать в твердую среду мелко измельченный мел, поскольку колонии таких бактерий можно легко отличить по окружающим их зонам просветления, возникаю-

щим благодаря образованию кислоты и растворению CaCO_3 (рис. 23.5).

Другая отличительная физиологическая особенность молочнокислых бактерий — *их высокая устойчивость к кислоте* как необходимое следствие характерного для них энергетического метаболизма. Хотя молочнокислые бактерии сферической формы могут начинать рост в нейтральной или щелочной среде, большинство палочковидных форм неспособно расти в среде с начальным рН выше 6. Рост всех молочнокислых бактерий продолжается до тех пор, пока в результате брожения величина рН не упадет до 5 или ниже.

Способность молочнокислых бактерий образовывать и переносить довольно высокие концентрации молочной кислоты имеет важное селективное значение, так как такое свойство дает им возможность успешно конкурировать с большинством других бактерий в средах, богатых питательными веществами. Об этом свидетельствует тот факт, что накопительные культуры молочнокислых бактерий можно легко получить из природных источников при использовании сложных сред с высоким содержанием сахара. Несомненно, такие среды поддерживают рост и многих других хемоорганотрофных бактерий, однако постепенно конкурирующие организмы почти полностью устраняются вследствие накопления молочной кислоты, образующейся в результате метаболической активности молочнокислых бактерий.

Благодаря крайней физиологической специализации молочнокислых бактерий их распространение ограничено лишь немногими характерными природными средами. Некоторые из них живут в ассоциации с растениями и развиваются за счет питательных веществ, освобождающихся при отмирании и разложении растительных тканей. Они встречаются в пищевых продуктах и напитках, приготовленных из растительных материалов: солений, кислой капусте, силосе для скота, вине и пиве. В процессе приготовления солений, кислой капусты и силоса первоначально присутствовавший в растениях сахар подвергается молочнокислому брожению. В напитках, получаемых путем брожения, молочнокислые бактерии, развитие которых иногда вызывает нежелательное закисление среды, являются потенциальной причиной порчи этих напитков.

Другие молочнокислые бактерии составляют часть нормальной флоры организма животных и в значительном числе встречаются в носоглотке, пищеварительном тракте и влагалище. Эти формы включают ряд известных возбудителей болезней человека и других млекопитающих; все они относятся к роду *Streptococcus*.

Третьим характерным местом обитания молочнокислых бактерий является молоко, в которое они попадают или из организма коровы, или из растительных материалов. Нор-

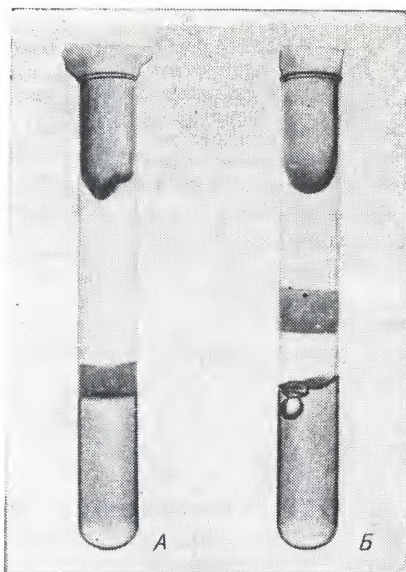


Рис. 23.6. Доказательство образования CO_2 молочнокислыми бактериями в пробирках с обогащенной сахаром средой и агаровыми пробками. А. *Streptococcus lactis*. Б. *Leuconostoc mesenteroides*.

мальное скисание молока вызывают некоторые стрептококки, а в приготовлении молочнокислых продуктов (масла, сыра, пахты, йогурта) важную роль играют палочковидные и сферические молочнокислые бактерии.

В связи с тем, что молочнокислые бактерии используются для приготовления пищевых продуктов и выступают как возбудители болезней человека и животных, они представляют собой группу большого экономического значения.

ПУТИ СБРАЖИВАНИЯ УГЛЕВОДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Приблизительно в 1920 г. Орла Иенсен (S. Orla Jensen) показал, что молочнокислые бактерии можно разделить на две биохимические подгруппы, различающиеся продуктами, которые они образуют из глюкозы. *Гомоферментативные* организмы превращают глюкозу почти количественно в молочную кислоту; *гетероферментативные* — в эквимольную смесь молочной кислоты, этанола и CO_2 . Механизм сбраживания глюкозы проще всего установить по образованию CO_2 . Однако, поскольку образуемое гетероферментативными организмами количество CO_2 невелико (один моль на моль сброженной глюкозы), его определение требует применения специального метода: бактерии выращивают в хорошо забуференной среде с высоким содержанием сахара, а пробирки герметически закупоривают агаровой пробкой для улавливания образовавшегося CO_2 (рис. 23.6).

Рис. 23.7.
Путь расщепления глюкозы homo-ферментативными молочнокислыми бактериями.

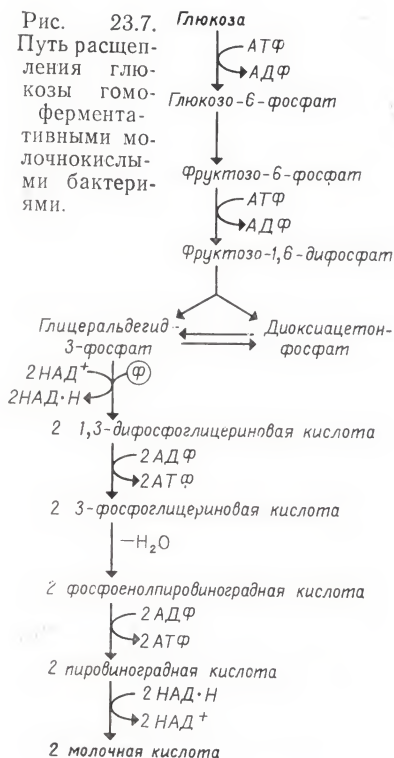
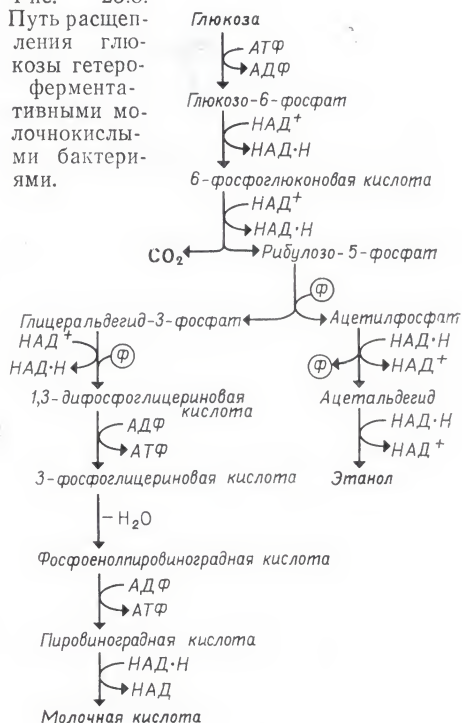
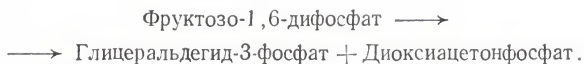


Рис. 23.8.
Путь расщепления глюкозы гетеро-ферментативными молочнокислыми бактериями.



моферментативные организмы диссимилируют глюкозу по пути Эмбдена — Мейергофа (рис. 23.7). Однако гетероферментативные организмы не могут использовать этот путь, поскольку у них отсутствует фруктозодифосфатаальдолаза — ключевой фермент, осуществляющий расщепление сахарофосфата:



Эти организмы диссимилируют глюкозу по окислительному пентозофосфатному пути (рис. 23.8). Первоначальное окисление глюкозо-6-фосфата до CO₂ и рибулозо-5-фосфата сопровождается расщеплением в последнем связи C₂—C₃ с образованием глицеральдегид-3-фосфата и ацетилфосфата. Триозофосфат превращается в молочную кислоту в цепи реакций, идентичных реакциям homoферментативного пути, тогда как ацетилфосфат восстанавливается до этанола. Это восстановление включает две последовательные реакции гидрирования, которые уравнивают две реакции дегидрирования, протекающие в процессе превращения глюкозо-6-фосфата в пентозофосфат и CO₂. Вследствие такого биохимического механизма данный тип брожения обязательно при-

водит к образованию строго эквимольных количеств трех конечных продуктов: молочной кислоты, этанола и CO_2 . Главным различием этих двух путей является конечный выход АТФ: при гомоферментативном брожении образуются два моля АТФ на один моль сброженной глюкозы, а при гетероферментативном — только один моль.

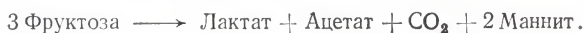
Гетероферментативные лактобациллы *L. brevis* и *L. buchneri* не могут расти в анаэробных условиях в присутствии глюкозы, так как они неспособны восстанавливать ацетилфосфат до этанола, что необходимо для сохранения общего окислительно-восстановительного равновесия. Однако они могут сбраживать глюкозу в аэробных условиях, окисляя НАД·Н за счет O_2 при участии флавопротеидного фермента. Общая реакция сбраживания глюкозы в этих условиях выглядит следующим образом:



Оба эти вида могут расти в анаэробных условиях за счет использования другой гексозы — фруктозы, так как у них имеется маннитдегидрогеназа, которая осуществляет восстановление этого кетосахара до многоатомного спирта маннита:



Эта реакция поддерживает окислительно-восстановительное равновесие в анаэробных условиях, общее же уравнение сбраживания фруктозы имеет вид:



Многие другие гетероферментативные организмы родов *Lactobacillus* и *Leuconostoc* также содержат маннитдегидрогеназу и в качестве одного из продуктов сбраживания фруктозы образуют маннит, а вместо этанола — некоторое количество ацетата.

Молочнокислые бактерии различаются в отношении образуемых ими изомеров молочной кислоты, что определяется стереоспецифичностью лактатдегидрогеназ, осуществляющих восстановление пирувата:



Некоторые виды содержат только D-лактатдегидрогеназу и поэтому образуют D-изомер молочной кислоты; другие содержат только L-лактатдегидрогеназу и образуют L-изомер. У определенных видов имеются две лактатдегидрогеназы разной стереоспецифичности, что приводит к образованию рацемической молочной кислоты.

ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Молочнокислые бактерии, клетки которых имеют сферическую форму, помещены в три разных рода, различаемых частично по морфологии, а частично по биохимическим свойствам. Гомоферментативные организмы, относящиеся к роду *Pediococcus*, делятся в двух плоскостях, образуя тетрады клеток. Бактерии родов *Streptococcus* и *Leuconostoc* делятся в одной плоскости с образованием цепочек клеток; первый род представлен гомоферментативными, а второй — гетероферментативными организмами. Как показано в табл. 23.5, эти

ТАБЛИЦА 23.5

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ
СО СФЕРИЧЕСКИМИ КЛЕТКАМИ

Форма клеток и их расположение	Способ сбраживания глюкозы	Конфигурация молочной кислоты	Род
Сферическая, цепочки клеток	Гомоферментативный	L-	<i>Streptococcus</i>
Сферическая, цепочки клеток	Гетероферментативный	D-	<i>Leuconostoc</i>
Сферическая, тетрады клеток	Гомоферментативный	DL-	<i>Pediococcus</i>
Палочкообразная	Различный	Различная	<i>Lactobacillus</i>

три рода различаются также и в отношении изомеров образуемой ими молочной кислоты.

Все палочковидные молочнокислые бактерии включены в один род *Lactobacillus*. Однако этот род делится на три подрода, различающихся свойствами, перечисленными в табл. 23.6. Гетероферментативные организмы (подрод *Beta-*

ТАБЛИЦА 23.6

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРЕХ ПОДРОДОВ *LACTOBACILLUS*

Подрод	Сбраживаемые сахара и используемый путь превращения		Образуемые изомеры молочной кислоты	Температурный предел роста, °C	
	гексозы	глюконат, пентозы		15	45
<i>Thermobacterium</i>	Эмбдена—Мейергофа	Не используются	L-, D- или DL-	—	+
<i>Streptobacterium</i>	То же	Пентозофосфатный	L- или DL-	+	—
<i>Betabacterium</i>	Пентозофосфатный	То же	DL-	B ¹	B ¹

¹ Варьирует от вида к виду.

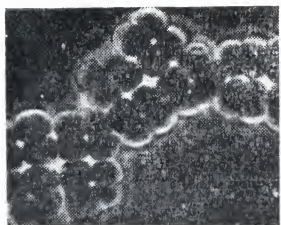


Рис. 23.9. *Sarcina maxima* (фазовый контраст, $\times 1630$) [Holt S., Canale-Parola E. Fine Struc-

ture of *Sarcina maxima* and *Sarcina ventriculi*, J. Bacteriol., 93, 399 (1967).]

bacterium) сбраживают сахара исключительно по пентозофосфатному пути и всегда образуют рацемическую молочную кислоту. Гомоферментативные организмы составляют два других подрода: *Thermobacterium* и *Streptobacterium*. У первого подрода расщепление сахаров идет только по пути Эмбдена — Мейергофа, причем пентозы и глюконовая кислота не сбраживаются. Для термобактерий характерны высокие максимальные и минимальные температуры роста. У *Streptobacterium* гексозы расщепляются сходным образом только через путь Эмбдена — Мейергофа; однако эти организмы содержат также и ферменты окислительного пентозофосфатного пути, по которому идет расщепление глюконовой кислоты и пентозы. Следовательно, в отличие от облигатных гомоферментативных организмов подрода *Thermobacterium* они являются факультативными гомоферментативными организмами. У *Streptobacterium* максимальные и минимальные температуры роста ниже, чем у *Thermobacterium*. Хотя каждый вид, входящий в тот или иной подрод, постоянно образует какой-либо один изомер молочной кислоты, для подрода в целом это не является характерным свойством.

МИКРОКОККИ

Кроме молочнокислых бактерий, имеющих сферическую форму, грамположительные кокки включают еще три других рода, которые различаются по своим физиологическим, метаболическим и морфологическим признакам. Клетки *Staphylococcus* и *Micrococcus* относительно невелики (приблизительно 1 мкм в диаметре) и не образуют правильных агрегатов. Клетки *Sarcina* значительно крупнее (диаметром 2—3 мкм) и образуют правильные кубические пакеты (рис. 23.9).

Представители рода *Staphylococcus* — факультативные анаэробы, сбраживающие сахара с образованием молочной кислоты в качестве одного из главных продуктов. Нуклеотидный состав их ДНК (30—40 мол. % ГЦ) лежит в тех же пределах, что и у многих сферических молочнокислых бактерий. Однако их легко отличить от последних на основе нескольких критериев: наличия каталазы и других гемсодержащих соединений, способности к дыхательному метаболизму, а также значительно менее строгих требований к источникам

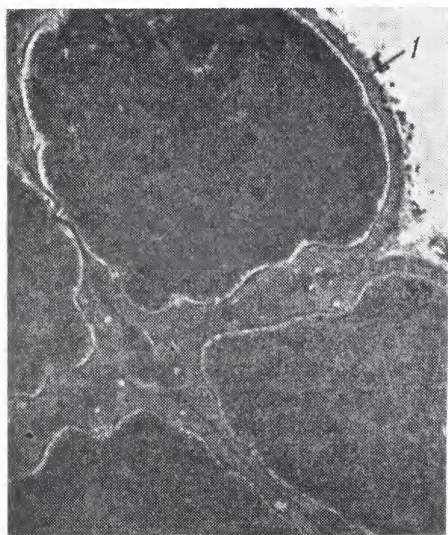


Рис. 23.10. Электронная микрофотография ультратонкого среза группы клеток *Sarcina ventriculi*, показывающая толстый целлюлозный слой (1), который окружает каждую клетку (X27 900). (Фото представлено С. Холтом и Е. Канале-Парола.)

углерода и энергии (эти бактерии могут расти на сложных средах в отсутствие углеводов). Кроме того, многие стафилококки образуют каротиноидные пигменты, отсутствующие у всех молочнокислых бактерий. Эти организмы — типичные представители нормальной микрофлоры кожи, а некоторые из них способны вызывать различные заболевания или пищевые отравления.

По своему строению клетки *Micrococcus* очень напоминают клетки *Staphylococcus*, но все представители этого рода относятся к облигатным аэробам и обнаруживают совершенно иной нуклеотидный состав ДНК (66—72 мол. % ГЦ). Нормальное местообитание этих бактерий неизвестно, но обычно они встречаются в воздухе, в молоке и повсюду, где производятся молочные продукты.

ТАБЛИЦА 23.7

ПРОДУКТЫ СБРАЖИВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SARCINA*¹

Продукт	<i>Sarcina ventriculi</i>	<i>Sarcina maxima</i>
Этанол	100	0
Молочная кислота	10	0
Уксусная кислота	60	40
Масляная кислота	0	77
CO ₂	190	197
H ₂	140	223

¹ Число молей на 100 молей сброженной глюкозы.

Два вида *Sarcina* принадлежат к аэротолерантным анаэробам и активно сбраживают сахара. Оба они расщепляют глюкозу по пути Эмбдена — Мейергофа, но с образованием разных конечных продуктов (табл. 23.7). *S. maxima* осуществляет типичное маслянокислое брожение, тогда как *S. ventriculi* при сбраживании глюкозы дает смесь этанола, молочной и уксусной кислот, а также значительное количество H_2 .

Необычной структурной особенностью *S. ventriculi* является клеточная стенка, в которой толстый внешний слой состоит из целлюлозы (рис. 23.10); помимо *Acetobacter xylinum* (см. стр. 136), это единственный прокариотический организм, способный синтезировать данный полисахарид.

ГРУППА II:

CORYNEBACTERIUM, MYCOBACTERIUM, NOCARDIA

Изучение представителей группы II, в которую входят коринеформные бактерии и проактиномицеты, выдвигает много трудных таксономических проблем; классификация этой группы основана на еще более противоречивых и неясных принципах, чем классификация большинства других главных бактериальных групп.

Сюда относится ряд важных патогенных для человека и животных форм, которые были первыми описанными и охарактеризованными представителями этой группы, например, такие, как *Corynebacterium diphtheriae* — возбудитель дифтерии и *Mycobacterium tuberculosis* — возбудитель туберкулеза. В дальнейшем были открыты и другие патогенные для человека и животных и паразитические формы, более или менее близкие к этим главным представителям.

Corynebacterium diphtheriae — нормальный обитатель дыхательных путей. Большинство штаммов непатогенны, но приобретают способность вызывать дифтерию после заражения специфическим фагом, придающим этим штаммам токсигенность в отношении клетки-хозяина (гл. 15).

C. diphtheriae и родственные паразитические или патогенные для животных виды представляют собой одноклеточные неподвижные организмы с характерной формой и расположением клеток. Сразу после деления дочерние клетки (имеющие булабовидную форму и суживающиеся к внешним полюсам) претерпевают внезапное «зашелкивающее» («разламывающее») перемещение (рис. 23.11), которое приводит к характерному их расположению под углом друг к другу (рис. 23.12). По-видимому, это обусловлено тем, что только внутренний слой двухслойной клеточной стенки втягивается внутрь клетки и образует перегородку. После того как формирование перегородки закончится, происходит локальный разрыв внешнего слоя (рис. 23.13). Механизм «зашелкивающего» и «разламывающего» перемещения клеток является характерной особенностью представителей группы II.

Рис. 23.11. «Зашелкивание» разделившихся клеток *Arthrobacter*, показанное с помощью последовательного фото-

графирования группы клеток, растущих на агаризованной среде (фазовый контраст, $\times 1720$). [Starr M. P., Kuhn D. A.,

On the origin of V-forms in *Arthrobacter atrocyaneus*, Arch. Mikrobiol., 42, 289 (1962).]

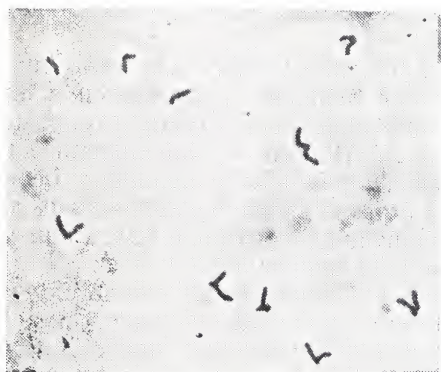
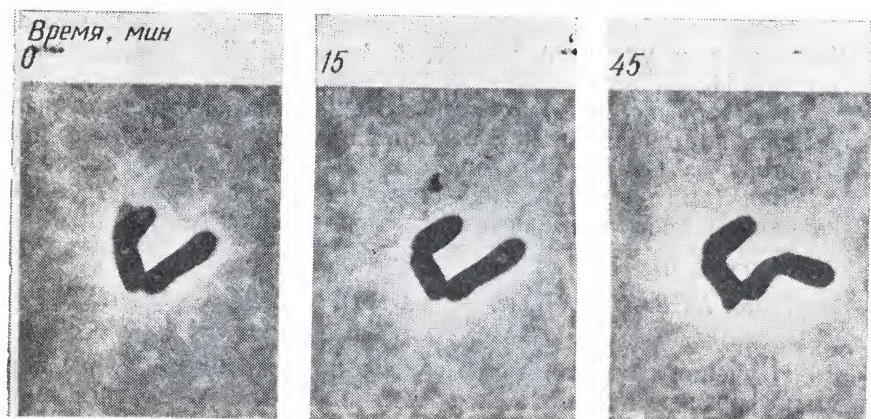


Рис. 23.12. Типичное расположение разделившихся клеток коринеформной бактерии под углом друг к другу, возникающее при их «зашелкивании» после деления (фазовый контраст, $\times 1400$). [Krulwich T. A., Pate J. L., Ultrastructural explanation for snapping post-fission movements in *Arthrobacter crystallopoietes*, J. Bacteriol., 105, 408 (1971).]

щего» перемещения клеток после деления схематически показан на рис. 23.14.

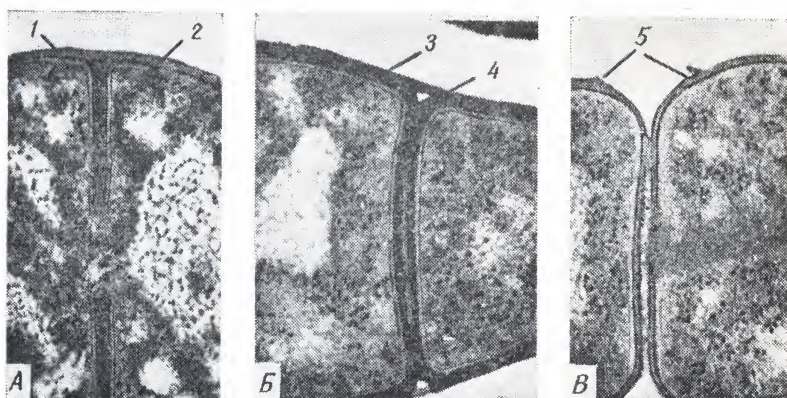
Коринебактерии — факультативные анаэробы, способные и к дыханию, и к брожению. При сбраживании сахара *C. diphtheriae* образует в качестве основного конечного продукта пропионовую кислоту. У большинства видов потребности в питательных веществах являются сложными, хотя детально и не изучены, например *C. diphtheriae* нуждается в нескольких витаминах группы В.

Представители группы *Mycobacterium* могут образовывать рудиментарный мицелий, который неустойчив и на ранней стадии роста организма фрагментируется на тонкие, неподвижные, иногда разветвленные палочки. В отличие от коринебактерий клетки не имеют остроконечной формы и не

Рис. 23.13. Электронные микрофотографии ультратонких срезов делящихся клеток коринеформной бактерии, показывающие двухслойную структуру клеточной стенки. А. Клетка с почти завершенной поперечной перегородкой: 1 — клеточная стенка, 2 —

клеточная мембрана. Б. Клетка, в которой образование поперечной перегородки завершено и видно разделение внутреннего (3) и внешнего (4) слоев стенки. В. Клетка, которая только что претерпела «защелкивающее» перемещение после деления; видно,

что непрерывный до этого внешний слой стенки разорвался на две части (5). [Krulwich T. A., Pate J. L., Ultrastructural explanation for snapping post-fission movements in *Arthrobacter crystallopoietes*, J. Bacteriol., 105, 408 (1971).]



«защелкиваются» после деления. Характерным, хотя и изменчивым свойством микобактерий является их *кислотоустойчивость*, которая встречается также у некоторых нокардий. Клетки, окрашенные горячим фенольным раствором основного фуксина, сохраняют красную окраску и при последующей обработке неорганической кислотой (разбавленными H_2SO_4 или HCl); все другие бактерии, окрашенные этим способом, быстро обесцвечиваются под действием кислоты. Кислотоустойчивость обусловлена очень высоким содержанием в клеточных стенках микобактерий и некоторых нокардий сложных липидов, благодаря которым клетки покрываются восковым налетом и приобретают сильную гидрофобность. Поэтому колонии имеют сухую шероховатую, морщинистую поверхность (рис. 23.15), а в жидких культурах (если их не выращивают в присутствии детергента) клетки слипаются с образованием плотной поверхностной пленки и слоя клеток, прикрепленного к стенкам сосуда для культивирования.

Микобактерии — облигатные аэробы с чисто дыхательным типом метаболизма. Рост, особенно у патогенных видов, замедлен. Непатогенные микобактерии, встречающиеся в почве, характеризуются более высокими скоростями роста и не нуждаются в факторах роста, тогда как патогенные виды об-

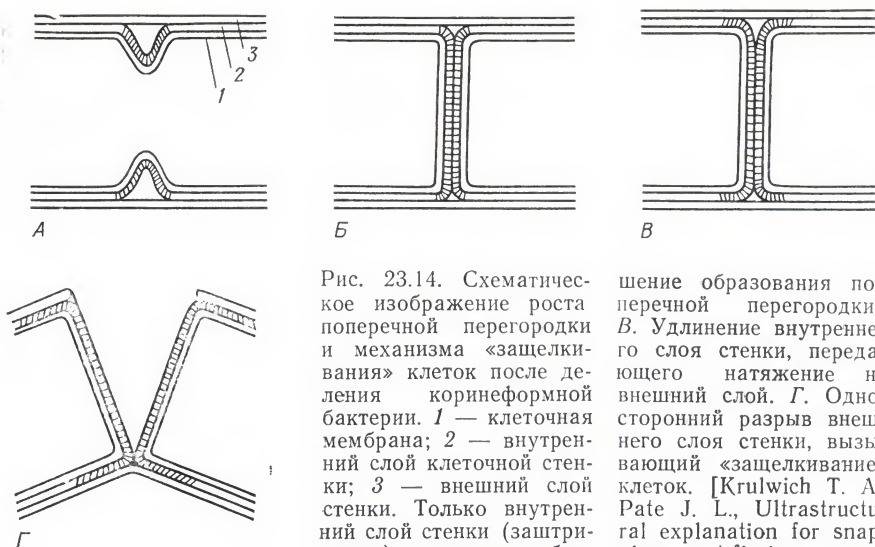


Рис. 23.14. Схематическое изображение роста поперечной перегородки и механизма «зашелкивания» клеток после деления коринеформной бактерии. 1 — клеточная мембрана; 2 — внутренний слой клеточной стенки; 3 — внешний слой стенки. Только внутренний слой стенки (заштрихован) участвует в образовании поперечной перегородки. А. Начало образования поперечной

перегородки. Б. Завершение образования поперечной перегородки. В. Удлинение внутреннего слоя стенки, передающего натяжение на внешний слой. Г. Односторонний разрыв внешней слоя стенки, вызывающий «зашелкивание» клеток. [Krulwich T. A., Pate J. L., Ultrastructural explanation for snapping post-fission movements in *Arthrobacter crystallopoietes*. J. Bacteriol., 105, 408 (1971).]

наруживают сложные потребности в питательных веществах.

Многие микобактерии образуют желтые или оранжевые каротиноидные пигменты, а у некоторых из них, так называемых *фотохромогенных* видов, синтез каротиноидов специфически индуцируется светом.

Группа *Nocardia* отличается от микобактерий прежде всего своей более выраженной тенденцией к мицелиальному росту. На начальных стадиях развития образуется обильный мицелий, в дальнейшем фрагментирующийся на короткие палочки (рис. 23.16). Некоторые из нокардий патогенны для животных; другие являются непатогенными почвенными организмами. По потребностям в питательных веществах и метаболизму они напоминают микобактерии.

Недавние химические исследования показали, что представителей родов *Corynebacterium*, *Mycobacterium* и *Nocardia* объединяет особый состав клеточной стенки, характерный для этих трех родов. Пептидогликан клеточной стенки построен по типу А (поперечная связь образуется непосредственно между *мезо*-диаминопимелиновой кислотой и D-аланином). Ковалентно соединенный с пептидогликаном полисахарид состоит из арабинозы и галактозы; присутствие такого арабиногалактона придает клеткам этих трех родов способность к перекрестной иммунологической реакции. Кроме то-

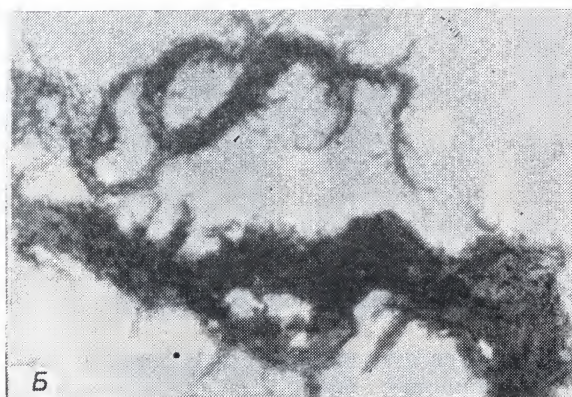
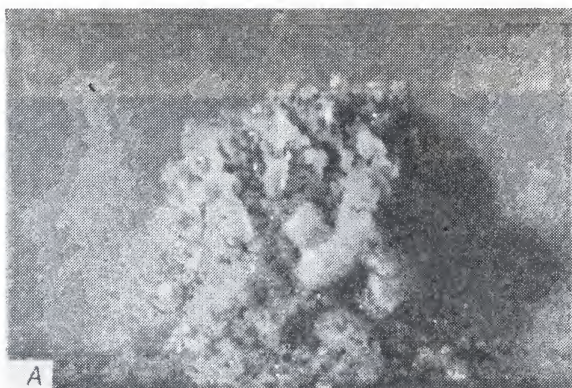
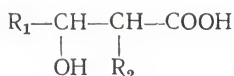


Рис. 23.15. Характерный вид культур *Mycobacterium tuberculosis*. А. Колония, растущая на поверхности чашки с агаровой средой (X7). Б. Агрегаты клеток в виде тяжей в жидкой культуре (X345). (Фото предоставлено проф. Н. Ристом, Институт Пастера, Париж.)

го, в стенках клеток всех трех родов содержится большое количество липидов, включая особый класс этих соединений, называемых *миколовыми кислотами*. Они представляют собой разветвленные β -оксикислоты, имеющие следующую структуру:

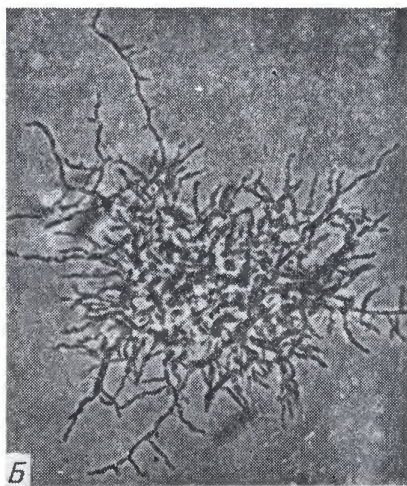


где R_1 и R_2 — алкильные группы; они имеют относительно высокий молекулярный вес. У микобактерий миколовые кислоты содержат от 79 до 85 атомов углерода, у нокардий — 48—58, а у коринебактерий — 32—36. Эти компоненты стенки присоединены сложноэфирными связями к арабиногалактану. Таким образом, общим для представителей всех трех родов является чрезвычайная сложность молекулярного строения клеточной стенки, а это, несмотря на структурные и физиологические различия данных организмов, дает воз-

Рис. 23.16. Молодые колонии на поверхности чашки с агаровой средой

($\times 648$). А. *Mycobacterium fortuitum*. Б. *Nocardia asteroides*. (Фото

предоставлено Рут Гордон и Х. Лешевалье.)



можно предположить, что коринебактерии, микобактерии и нокардии составляют внутри группы II актиномицетной линии таксономически взаимосвязанную подгруппу.

ГРУППА II: АЭРОБНЫЕ КОРИНЕФОРМНЫЕ БАКТЕРИИ

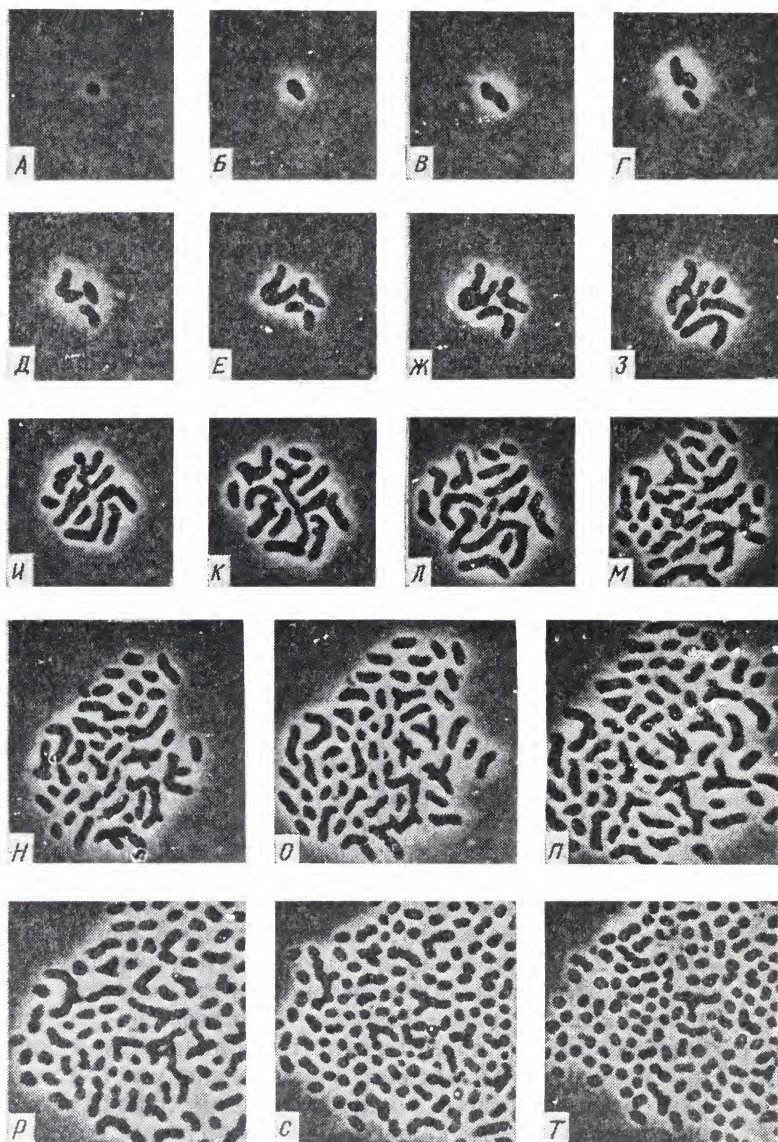
Род *Corynebacterium* является относительно небольшой и четко отграниченной совокупностью организмов при условии, если он включает лишь *C. diphtheriae* и родственные паразитические и патогенные для животных бактерии, являющиеся факультативными анаэробами и обладающие клеточными стенками вышеописанного строения. Однако у многих других неспоровых грамположительных бактерий обнаруживаются характерные для *Corynebacterium* форма клеток и способность «защелкиваться» после деления. Эти так называемые *коринеформные бактерии* различаются как по физиологическим и метаболическим свойствам, так и по потребностям в питательных веществах. Встречаются они в самых различных местах обитания.

Облигатно аэробные коринеформные бактерии в изобилии размножаются в почве и в молочных продуктах; некоторые из них патогенны для растений. Часть этих организмов принадлежит к роду *Corynebacterium*, другие помещены в ряд особых родов. К наиболее изученным представителям относятся почвенные коринеформные организмы рода *Arthrobacter*. Они составляют большую часть популяции аэробных хемогетеротрофных почвенных бактерий и являются важными агентами, способствующими минерализации органического

Рис. 23.17. Жизненный цикл клеток *Arthrobacter*. На последовательных микрофотографиях показано развитие в течение 10 ч микроколонии,

образовавшейся из единственной кокковидной клетки (фазовый контраст, $\times 1020$). [Veldkamp H., van den Berg G., Zevenhuizen L. P.

T. M., Glutamic acid production by *Arthrobacter globiformis*, *Antonie van Leeuwenhoek*, 29, 35 (1963).]



вещества в почве. Наиболее характерная особенность видов *Arthrobacter* заключается в последовательном изменении формы клеток, сопровождающем рост (рис. 23.17). В культурах, вступивших в стационарную фазу, клетки напоминают микрококки, так как имеют сферическую форму и одинаковый размер. При возобновлении роста эти клетки удлиняются в палочки, которые претерпевают бинарное «защелкивающим» перемещением. Вблизи одного или обоих полюсов этих палочек могут возникать тонкие выросты, приводящие к появлению разветвленных форм, которые напоминают ранние стадии развития микобактерий или проактиномицетов. Возврат к кокковидной стадии может происходить либо путем множественной фрагментации (как у нокардий), либо путем постепенного укорачивания палочек при последовательных бинарных делениях. Таким образом, этот необычный ростовой цикл включает характерные черты, свойственные не только коринебактериям, но и микобактериям и нокардиям. Однако артробактеры резко отличаются от группы *Corynebacterium—Mycobacterium—Nocardia* по составу клеточной стенки. Они не синтезируют ни арабиногалактана, ни миколовых кислот и разные их виды образуют множество химических типов пептидогликанов.

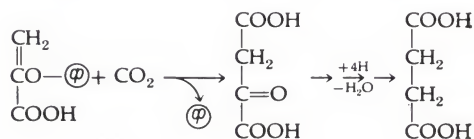
По своим потребностям в питательных веществах группа *Arthrobacter* обнаруживает интересную аналогию с аэробными псевдомонадами: большинство видов может использовать в качестве основных источников углерода и энергии широкий спектр разнообразных простых органических соединений. Многие виды нуждаются в факторах роста.

АЭРОТОЛЕРАНТНЫЕ АНАЭРОБЫ ГРУППЫ II

Несколько родов коринеформных бактерий и проактиномицетов представлены аэротолерантными анаэробами, осуществляющими особые типы брожения углеводов. К ним относятся *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* и *Actinomyces*.

Коринеформные бактерии рода *Propionibacterium* впервые были выделены из швейцарского сыра (они играют важную роль в его созревании). Лактат, который первоначально образуется в свернувшемся молоке молочнокислыми бактериями, сбраживается затем до пропионата, ацетата и CO_2 развивающимися как вторичная микрофлора пропионовыми бактериями. Пропионат и ацетат придают швейцарскому сыру специфический аромат, а выделяющаяся CO_2 создает характерную для него ноздреватость. Дальнейшие исследования показали, что первичным природным местообитанием пропионовых бактерий является рубец травоядных животных, где они сбраживают лактат, образованный другими представителями микрофлоры рубца. Кроме лактата эти ор-

ганизмы могут сбраживать также и ряд различных сахаров. Хотя пропионовые бактерии не растут в присутствии воздуха и требуют для своего развития анаэробных условий или низкого парциального давления O_2 , они содержат гемопротеиды, в число которых входят цитохромы и каталаза. Им свойствен бродильный тип метаболизма: они расщепляют сахара по пути Эмбдена — Мейергофа до пропионата, ацетата, CO_2 и сукцината. Количество сукцината сильно зависит от содержания CO_2 в ростовой среде, так как он образуется в результате карбоксилирования промежуточного продукта гликолиза — фосфоенолпирувата, превращающегося при этом в оксалоацетат, который затем восстанавливается в сукцинат:



Когда сбраживаемым субстратом является лактат, он сначала окисляется в пируват. Часть пирувата далее окисляется до ацетил-КоА и CO_2 , причем превращение ацетил-КоА в ацетат сопровождается образованием АТФ. Получение

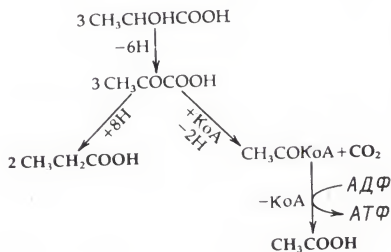
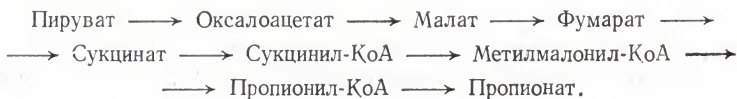


Рис. 23.18. Схематическое изображение пропионовокислого брожения молочной кислоты.

в процессе брожения окисленных продуктов — ацетата и CO_2 — уравнивается сопутствующим восстановлением пирувата до пропионата, как схематически показано на рис. 23.18. Суммарное уравнение выглядит так:



Образование пропионата из пирувата осуществляется в сложной цепи реакций путем последовательного превращения промежуточных продуктов:



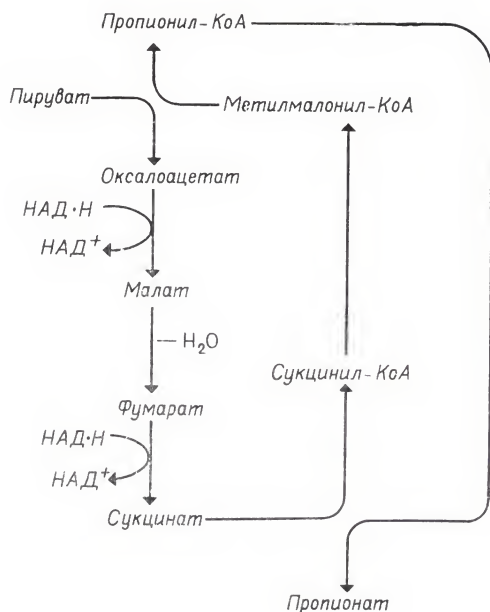


Рис. 23.19. Циклический механизм образования пропионата из пирувата пропионовокислыми бактериями.

Этапы данного пути включают как перенос КоА, так и транскарбоксилирование промежуточных продуктов. Такими реакциями являются:

1. $\text{Пируват} + \text{Метилмалонил-КоА} \xrightarrow{\text{Транскарбоксилирование}} \text{Оксалоацетат} + \text{Пропионил-КоА}$
2. $\text{Оксалоацетат} + 2\text{НАД} \cdot \text{Н} + 2\text{Н}^+ \xrightarrow{\text{Восстановление}} \text{Сукцинат} + 2\text{НАД}^+ + \text{Н}_2\text{О}$
3. $\text{Сукцинат} + \text{Пропионил-КоА} \xrightarrow{\text{Перенос КоА}} \text{Сукцинил-КоА} + \text{Пропионат}$
4. $\text{Сукцинил-КоА} + \text{Пропионил-КоА} \xrightarrow{\text{Транскарбоксилирование}} \text{Пропионил-КоА} + \text{Метилмалонил-КоА}$

Как показано на рис. 23.19, реакции, связанные с образованием пропионата, имеют циклический характер.

Аэротолерантные анаэробы рода *Bifidobacterium*, составляющие основную часть кишечной микрофлоры грудных младенцев, в некоторых отношениях напоминают молочнокислые бактерии. Они каталазоотрицательны и имеют сложные потребности в отношении питательных веществ; кроме того, они сбраживают сахара с образованием молочной кислоты в качестве основного конечного продукта. Однако суммарное уравнение носит особый характер и не соответствует

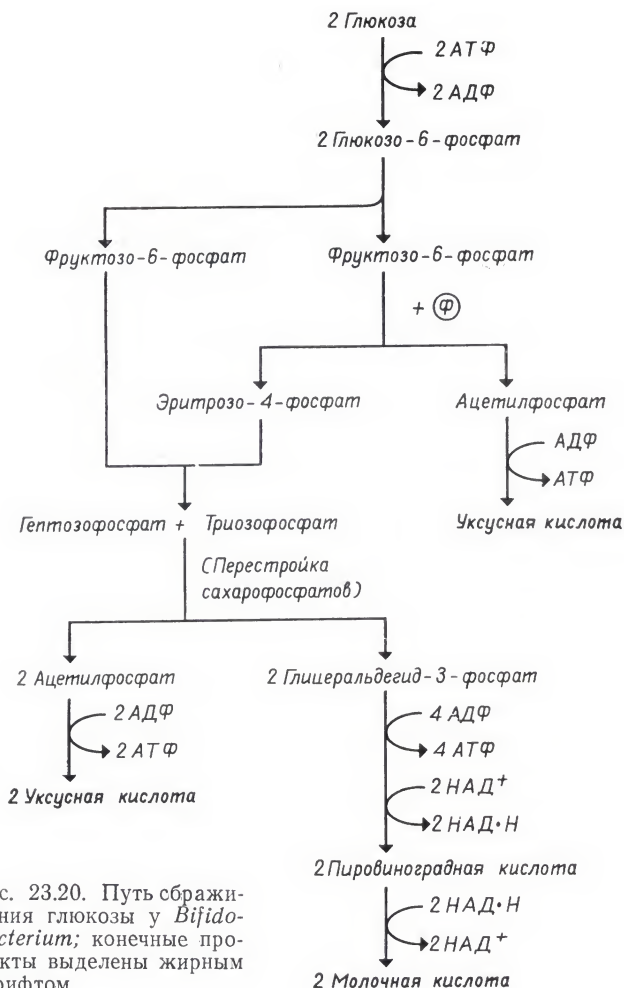


Рис. 23.20. Путь сбраживания глюкозы у *Bifidobacterium*; конечные продукты выделены жирным шрифтом.

ни гомоферментативному, ни типичному гетероферментативному молочнокислому брожению:



Этот тип брожения имеет единственный в своем роде биохимический механизм (рис. 23.20). Как и при расщеплении по пути Эмбдена — Мейергофа, глюкоза сначала фосфорилируется в положении 6, а затем превращается во фруктозо-6-фосфат. Расщепление связи C_2-C_4 во фруктозо-6-фосфате сопровождается присоединением неорганического фосфата. Последующей реакцией между эритрозо-4-фосфатом и фруктозо-6-фосфатом начинается сложный ряд взаимных превра-



Рис. 23.21. Бульонная культура *Actinomyces israelii*; видны разветвленные клетки и короткие фрагменты мицелия (снимок в темном поле, $\times 1120$). [Slack J. M., Landfried S., Gerencer M. A., Morphological, biochemical and serological studies on 64 strains of *Actinomyces israelii*, J. Bacteriol., 97, 873 (1969).]

щений сахарофосфатов, в результате чего в конечном счете образуются два моля ацетилфосфата и два моля глицеральдегид-3-фосфата. Из ацетилфосфата получается ацетат, а триозофосфат через пируват превращается в лактат. В энергетическом отношении это брожение несколько более эффективно, чем гомоферментативное молочнокислое брожение, поскольку оно дает пять молей АТФ на каждые два моля сброженной глюкозы.

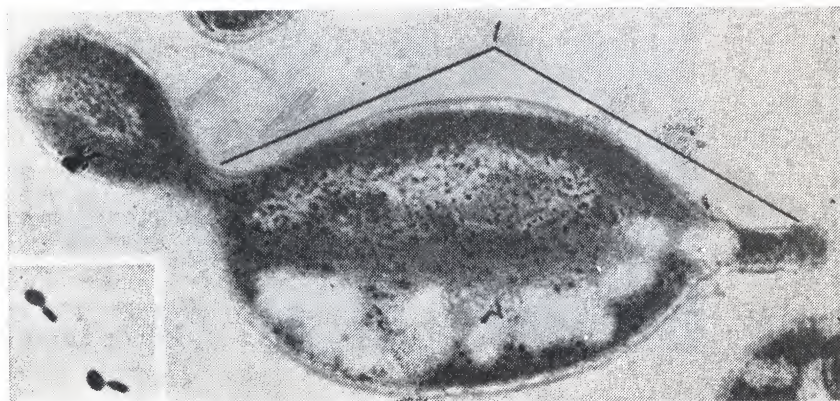
Клетки бифидобактерий обычно бывают вздутыми, неправильной формы и разветвленными. Сложные потребности этих организмов в питательных веществах включают потребность в N-ацетилглюкозамине или β -замещенных дисахаридах, содержащих этот аминсахар (например, N-ацетиллактозамине). Присутствие таких соединений в молоке делает его наиболее благоприятной средой для бифидобактерий, и, вероятно, именно этим объясняется их преобладание в кишечной флоре грудных детей. При культивировании в среде, содержащей избыток N-ацетилглюкозамина, клетки бифидобактерий приобретают значительно более правильную палочковидную форму. Следовательно, разветвленные раздутые клетки, характерные для этих организмов, вероятно, появляются потому, что их обычно выращивают при ограниченном снабжении N-ацетилглюкозаминном, являющимся важным предшественником пептидогликана.

К представителям рода *Actinomyces* относятся организмы, входящие в нормальную флору полости рта и глотки, а также ряд патогенных видов, вызывающих заболевания у человека и крупного рогатого скота. Подобно бифидобактериям, они являются каталазоотрицательными аэротолерантными анаэробами и требуют для выращивания сложных питательных сред. Для хорошего роста часто необходимо присутствие CO_2 . Продукты сбраживания глюкозы более разнообразны, чем у бифидобактерий, и наряду с лактатом и ацетатом включают формиат и сукцинат. В молодых культурах эти организмы обнаруживают более выраженную, чем у бифидобактерий,

Рис. 23.22. R-форма клетки *Geodermatophilus*. Электронная микрофотография ультратонкого среза почкующейся клетки с двумя поляр-

ными стебельками (1), на одном из которых образуется дочерняя почка ($\times 47\,600$). На вставке фазово-контрастная микрофотография почкующ-

щихся клеток в R-форме. [Ishiguro E. E., Wolfe R. S., Control of morphogenesis in *Geodermatophilus*: ultrastructural studies, J. Bacteriol., 104, 566 (1970).]



тенденцию к мицелиальному росту, хотя их мицелий непрочен и легко распадается на палочковидные или разветвленные фрагменты (рис. 23.21).

GEODERMATOPILUS И DERMATOPHILUS

Эти два рода аэробных грамположительных бактерий характеризуются циклами развития, совершенно непохожими на циклы развития каких-либо других представителей актиномицетной линии. Поэтому их принадлежность к данной категории организмов кажется сомнительной. Так как они никогда не образуют мицелия, их поместили в группу II. *Dermatophilus* — организм, патогенный для животных, а *Geodermatophilus* — почвенный организм. Их циклы развития, которые, по-видимому, являются сходными, наиболее подробно изучены у *Geodermatophilus*. Для этого организма характерны две совершенно разные фазы роста: одна представлена размножающимися путем почкования подвижными палочками со жгутиками (R-форма); другая — неподвижными агрегатами кокковидных клеток, которые увеличиваются в размере за счет роста и деления составляющих их клеток и размножаются путем распада на два меньших агрегата приблизительно равного размера (С-форма). Смена этих двух различных способов развития (рис. 23.22 и 23.23) контролируется, вероятно, условиями питания: неизвестный фактор, присутствующий в некоторых пептонах, переключает рост из R-фазы в С-фазу; при его отсутствии в питательной среде

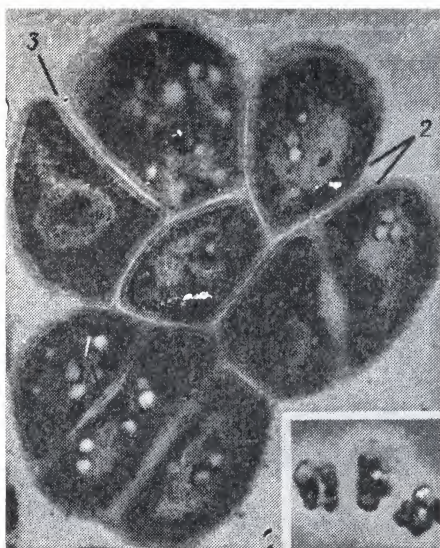


Рис. 23.23. С-форма клетки *Geodermatophilus*. Электронная микрофотография ультратонкого среза массы кокковидных клеток. Плазматическая мембрана каждой клетки окружена сложной стенкой, состоящей из прозрачного внутреннего слоя (1) и фибриллярного внешнего слоя (2); соседние клетки разделены прозрачной зоной (3) ($\times 21\,600$). На вставке фазово-контрастная микрофотография клеток в С-форме. [Ishiguro E. E., Wolfe R. S., Control of morphogenesis in *Geodermatophilus*: ultrastructural studies, J. Bacteriol., 104, 566 (1970).]

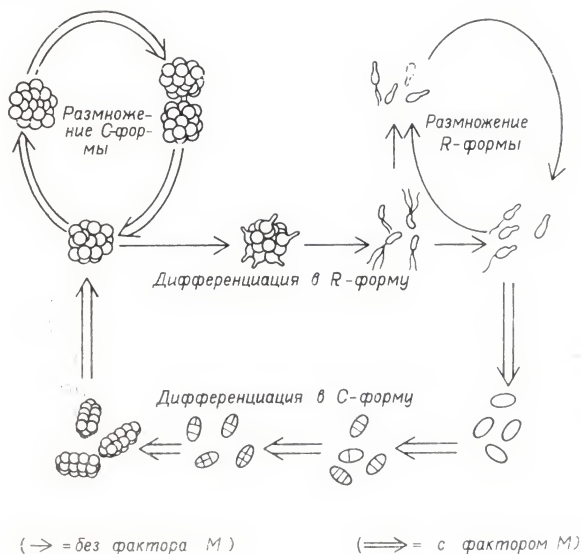


Рис. 23.24. Схематическое изображение двух фаз развития *Geodermatophilus*, показывающее влияние неизвестного фактора (фактора М), присутствующего в пептоне, на взаимный переход между ними (Ishiguro E. E., Wolfe R. S., Control of morphogenesis in *Geodermatophilus*: ultrastructural studies, J. Bacteriol., 104, 566 (1970).]

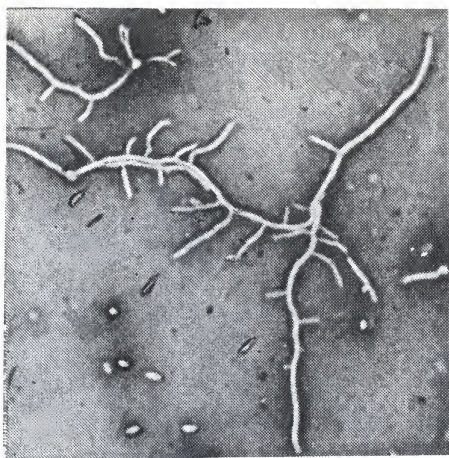


Рис. 23.25. Прорастающие споры *Streptomyces*; видны ранние стадии развития субстратного мицелия (нигрозиновый влажный препарат, $\times 1580$). В поле находится также несколько непроросших спор. (Фото предоставлено С. Ф. Робину.)

происходит постоянный рост в R-фазе. Взаимосвязь между этими двумя фазами роста схематически показана на рис. 23.24.

ГРУППА III: ЭУАКТИНОМИЦЕТЫ

Из многих родов эуактиномицетов наиболее крупным, несомненно, является *Streptomyces*. Эти организмы в изобилии встречаются в почве, и характерный запах сырой земли обусловлен летучим веществом, которое они выделяют. Эта бактериальная группа имеет огромное значение, поскольку, как было обнаружено в 1945 г., стрептомицеты образуют большое число терапевтически ценных антибиотиков в качестве вторичных метаболитов (дальнейшее обсуждение этого вопроса см. в гл. 31). Интенсивный поиск штаммов, способных продуцировать новые антибиотики, привел к тому, что были описаны сотни новых видов, классификация которых часто покоится на весьма шатких основах.

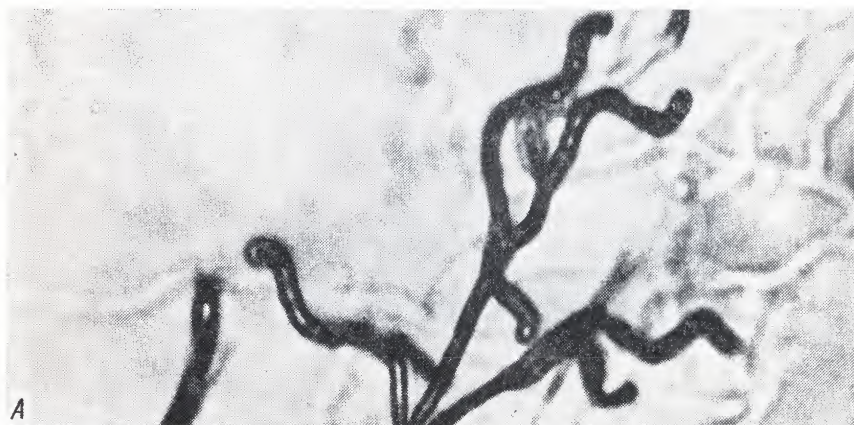
ЦИКЛ РАЗВИТИЯ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Прорастание небольших палочковидных или овальных спор происходит путем выхода наружу гиф, причем из каждой споры возникает от 1 до 4 отдельных гиф шириной 0,5—1 мкм (рис. 23.25). Удлинение и ветвление гиф приводит к образованию плотной компактной колонии, состоящей из субстратного мицелия с гладкой влажной поверхностью. На поверхности колонии затем развивается более рыхлый воздушный мицелий. Гифы воздушного мицелия имеют большую толщину и преломляющую способность по сравнению с гифами субстратного мицелия. Материал чехла гидрофобный, поэтому воздушный мицелий не смачивается водой. Его окраска также обычно отличается от окраски субстратного мице-

Рис. 23.26. Микрофотографии воздушного мицелия двух стрептомицетов,

иллюстрирующие два различных типа расположения спорулирующих гиф.

[Фото А (×2940) предоставлено Х. Лешевалье, а Б (×2550) — П. Хиршем.]

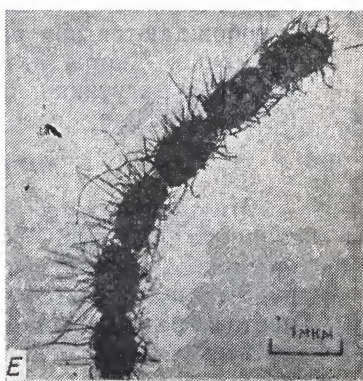
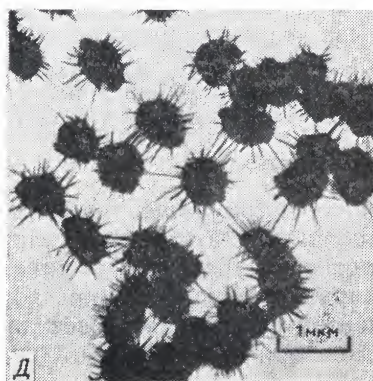
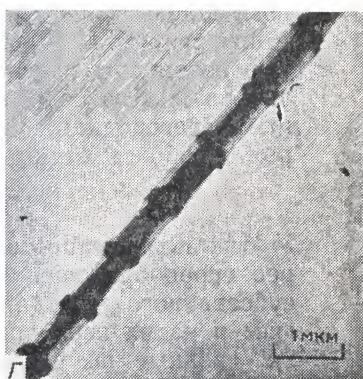
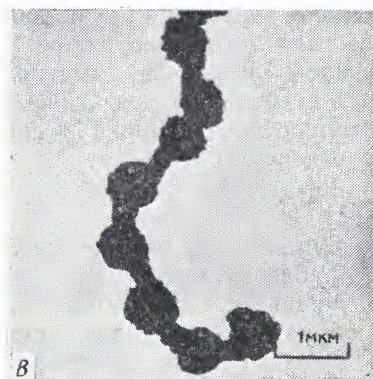
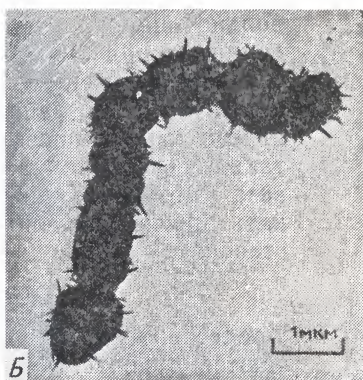
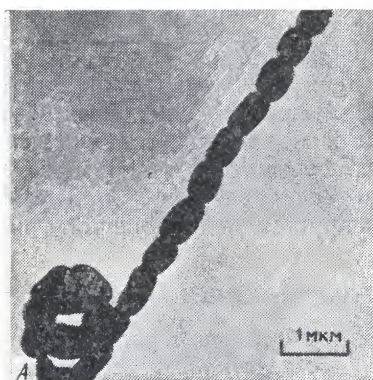


лия. В процессе вегетативного роста в мицелии образуется мало поперечных перегородок, поэтому колония в основном является ценоцитной (многоядерной). Споры развиваются только на воздушном мицелии путем фрагментации верхушки гифы внутри чехла и образования цепочек спор, которые остаются в общем чехле. Разные представители данного рода различаются между собой по расположению спорулирующих гиф; два типа такого расположения показаны на рис. 23.26. Созрев, споры обособливаются (каждая из них одевается частью общего чехла) и легко отделяются от гифы. Отличительным признаком различных видов стрептомицетов является характер поверхностной структуры спор, устанавливаемый

Рис. 23.27. Электронные микрофотографии спор шести различных видов *Streptomyces*, показывающие разные типы поверхностных структур и орнаментации. А. Гладкие споры у *S. sacaoi*. Б. Споры с тупыми шипами у *S. hirsutus*. В.

Бородавчатые споры у *S. griseoplanus*. Г. Особый «фаланговидный» тип гладких спор у *S. aureofaciens*. Д. Споры с длинными острыми шипами у *S. fasciculatus*. Е. Споры, покрытые волосками, у *S. flavoviridis*. [С любезного разре-

шения Х. Д. Треснера, Lederle laboratories; частично воспроизведено по Shirling E. B., Gottlieb D., Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species descriptions from first study, Intern. J. Syst. Bacteriol., 18, 69 (1968).]



с помощью электронно-микроскопического исследования. Он отражает природу материала, из которого построен чехол. У одних видов споры имеют гладкую поверхность; у других — несут выросты различной формы (рис. 23.27).

Все стрептомицеты — облигатные аэробы. Они растут на простых питательных средах и не нуждаются в факторах роста. Хотя диапазон используемых источников углерода и энергии систематически не изучался, он, по-видимому, довольно широк и кроме простых органических соединений включает ряд биополимеров, которые гидролизуются внеклеточными ферментами. Единственным природным полимером, на который воздействуют только стрептомицеты, является латекс каучуконосов. Многие из этих организмов образуют также несколько разных ферментов, способных гидролизовать пептидогликаны, и, следовательно, они могут лизировать другие бактерии, разрушая пептидогликановый слой их стенок.

STREPTOSPORANGIUM

Представители этого рода, подобно стрептомицетам, встречаются в почве. Как и у *Streptomyces*, прорастание спор у *Streptosporangium* приводит к образованию субстратного и воздушного мицелия. Однако механизмы спорообразования у них разные. У *Streptosporangium* на верхушках воздушных гиф возникают одетые чехлом пузырьки диаметром 20 мкм; внутри них из спиральных неразветвленных гиф, разделенных перегородками, формируются неподвижные споры, которые освобождаются при разрыве чехла.

ACTINOPLANES

У этих актиномицетов воздушный мицелий не образуется. Перед спорообразованием на поверхности ярко окрашенного субстратного мицелия развивается слой покрытых чехлом гиф, и на их верхушках образуются несущие споры пузырьки, сходные по размеру с пузырьками *Streptosporangium* (рис. 23.28). Споры возникают внутри каждого пузырька из разделенных перегородками разветвленных спиральных гиф и освобождаются при разрыве чехла, который составляет стенку пузырька. Споры актиномицетов этой группы движутся с помощью жгутиков. Виды *Actinoplanes* обычно встречаются в пресной воде, но обнаруживаются также и в почве.

MICROMONOSPORA

Micromonospora, подобно *Actinoplanes*, не образует воздушного мицелия. Окрашенные вегетативные колонии этого организма состоят из плотного субстратного мицелия. Спорирующие гифы не покрыты чехлом; споры коричневого цвета образуются по одной на верхушках разветвленных гиф по всему субстратному мицелию (рис. 23.29). Спорообразо-

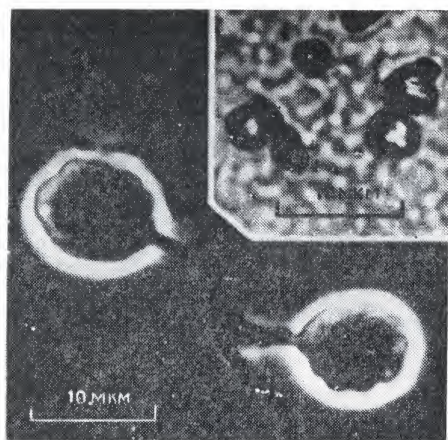


Рис. 23.28. Пузырьки, несущие споры, у *Actinoplanes*. Два созревших пузырька, присоединенных к гифе (препарат, заключенный в воду; фазовый контраст). На вставке: группа созревших спороносных пузырьков на поверхности колонии (снимок в светлом поле). [Lechevalier H., Holbert P. E., Electron Microscopic observation of the sporangial structure of a strain of *Actinoplanes*, J. Bacteriol., 89, 217 (1965).]

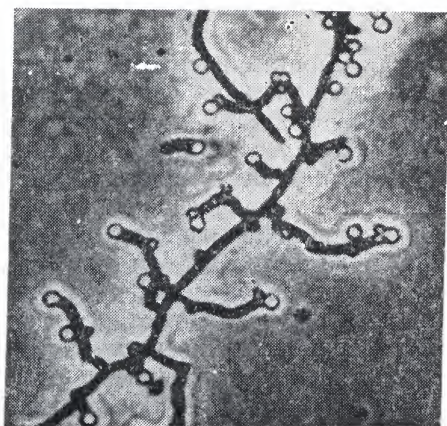


Рис. 23.29. *Micromonospora chalybeata*; видны сферические споры, расположенные по одной на верхушках гиф (фазовый контраст, $\times 2300$). (Фото предоставлено Г. М. Людеманном и Schering Corporation.)

вание сопровождается изменением цвета колонии. Микромоноспоры встречаются как в почве, так и в пресной воде. Представители этого рода — облигатные аэробы; многие из них могут использовать в качестве источника углерода и энергии такие полисахариды, как целлюлоза, хитин и ксилан. Из содержимого кишечника термитов выделены анаэробные, сбраживающие целлюлозу виды *Micromonospora*; это единственные анаэробные представители эуактиномицетов и единственные члены этой группы, способные к брожению.

СВОЙСТВА СПОР ЭУАКТИНОМИЦЕТОВ

Почти у всех эуактиномицетов, включая четыре вышеописанных рода, споры возникают в результате деления перегородками дистальной части гифы, покрытой (*Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Actinoplanes*) или непокрытой (*Micromo-*



Рис. 23.30. Фазово-контрастная микрофотография части мицелия *Thermoactinomyces*, на которой показаны преломляющие эндоспоры, размещенные на коротких боковых ответвлениях ($\times 1360$). [Lacey J., *Thermoactinomyces sacchari* sp. nov., a thermophilic actinomycete causing bagassosis, J. Gen. Microbiol., 66, 327 (1971).]

nospora) чехлом. Если споры образуются внутри покрытых чехлом гиф, то после освобождения они иногда оказываются окруженными слоем гидрофобного материала чехла; это характерно для спор *Streptomyces*. Однако у таких родов, как *Streptosporangium* и *Actinoplanes*, споры развиваются в везикулярном расширении на концах спорулирующих гиф и освобождаются при разрыве окружающего их чехла; поэтому у них отсутствует слой вещества, из которого состоит чехол.

Актиномицетные споры, образующиеся из гиф, разделенных перегородками, никогда не бывают устойчивыми к нагреванию. Их термотолерантность не выше, чем у вегетативного мицелия. Однако в сухом состоянии споры *Streptomyces* могут длительное время сохранять жизнеспособность. По-видимому, споры существенно не отличаются от мицелия ни по внутриклеточной структуре, ни по химическому составу; относительно небольшое число проведенных исследований показало, что ферменты спор по своей специфичности и уровню активности сходны с ферментами мицелия. Отделившиеся от мицелия споры несут, по всей вероятности, репродуктивную функцию. Они распространяются путем рассеивания в воздухе или воде.

THERMOACTINOMYCES — ЭУАКТИНОМИЦЕТ, ОБРАЗУЮЩИЙ ЭНДОСПОРЫ

Сложенные в кучу гниющие растительные остатки и навоз часто подвергаются самопроизвольному разогреванию в результате интенсивной метаболической активности содержащихся в них микробных популяций; температура внутри такой массы может повышаться до 80 °С. Местообитания подобного типа богаты термофильными актиномицетами, при-

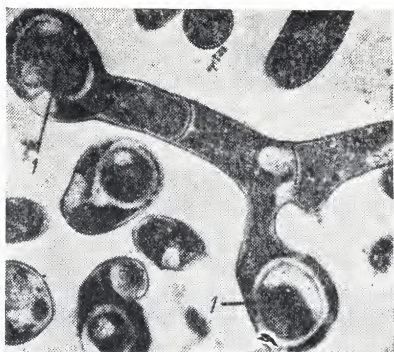


Рис. 23.31. Электронная микрофотография ультратонкого среза спорующих гиф *Thermoactinomyces*, показывающая две проспоры (1), включенные в цитоплазму увеличенных верхушек гиф ($\times 20\,000$). [Lacey J., *Thermoactinomyces sacchari* sp. nov., a thermophilic actinomycete causing bagassosis, J. Gen. Microbiol., 66, 327 (1971).]

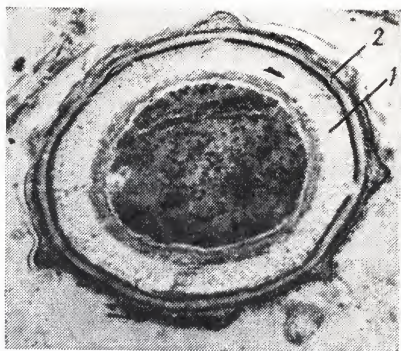


Рис. 23.32. Электронная микрофотография ультратонкого среза зрелой эндоспоры *Thermoactinomyces*, показывающая кортекс (1) и сложную оболочку (2), окружающую спору ($\times 50\,600$). [Lacey J., *Thermoactinomyces sacchari* sp. nov., a thermophilic actinomycete causing bagassosis, J. Gen. Microbiol., 66, 327 (1971).]

чем описано несколько принадлежащих к ним родов. Среди этих термофильных актиномицетов имеются представители рода *Thermoactinomyces*, который, как уже давно известно, образует чрезвычайно терморезистентные споры, сохраняющие жизнеспособность даже после нагревания в течение 1 ч при 100°C , в то время как максимальная температура роста *Thermoactinomyces* соответствует $65\text{--}68^\circ\text{C}$.

Thermoactinomyces имеет как субстратный, так и воздушный мицелий, на каждом из которых формируются споры. Они обладают высокой преломляющей способностью и образуются по одной через определенные промежутки по всей длине гифы (рис. 23.30). Электронные микрофотографии ультратонких срезов спорующей гифы (рис. 23.31) показывают, что незрелые споры полностью заключены *внутри* гифы. Этим они напоминают проспоры *Bacillus* и *Clostridium*; они освобождаются после созревания в результате автолиза мицелия. Их тонкая структура (рис. 23.32) характерна для эндоспор: они покрыты толстой жесткой оболочкой, окружающей широкий кортекс. Кроме того, в них содержится большое количество дипикотиновой кислоты. Следовательно, не может быть сомнений, что как по структуре, так и по функции споры *Thermoactinomyces* гомологичны эндоспорам *Bacillus* и *Clostridium* и совершенно отличны от спор всех других эуактиномицетов.

Более того, содержание ГЦ в ДНК *Thermoactinomyces* намного ниже, чем у других эуактиномицетов, и лежит в пределах соответствующих величин, характерных для многих видов *Bacillus*. Следовательно, вполне возможно, что этот мицелиальный организм более тесно связан с представителями рода *Bacillus*, чем с эуактиномицетами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

Prause H. (ed.), 1968, The Actinomycetales, Jena International Symposium on Taxonomy, Jena, G. Fischer.

Sykes G., Skinner F. A. (eds.), 1973, *Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*, New York, Academic Press.

Обзоры и оригинальные статьи

Attwell R. W., Cross T., Gould G. W., 1972, Germination of *Thermoactinomyces vulgaris* Endospores, J. Gen. Microbiol., **73**, 471.

Baird-Parker A. C., 1966, Methods for Classifying Staphylococci and Micrococci, in Gibbs B. M., Skinner F. A. (eds.), *Identification Methods for Microbiologists*, 1A, 59, New York, Academic Press.

Barksdale L., 1970, *Corynebacterium diphtheriae* and Its Relatives, Bact. Revs., **34**, 378.

Canale-Perola E., 1970, Biology of Sugar-Fermenting Sarcinae, Bact. Revs., **34**, 82.

Goren M. B., 1972, Mycobacterial Lipids: Selected Topics, Bact. Revs., **36**, 33.

Hettinga D. H., Reinbold G. W., 1972, The Propionic Acid Bacteria, a Review, J. Milk Food Tech., **35**, 295; **35**, 358; **35**, 436.

Ishiguro E., Wolfe R. S., 1970, Control of Morphogenesis in *Geodermatophilus*: Ultrastructural Studies, J. Bact., **104**, 566.

Krulwich T. A., Pate J. L., 1971, Ultrastructural Explanation for Snapping Post-Fission Movements in *Arthrobacter crystallopoietes*, J. Bact., **105**, 408.

Schleifer K. H., Kandler O., 1972, Peptidoglycan Types of Bacterial Cell Walls and Their Taxonomic Implication, Bact. Revs., **36**, 407.

Sharpe M. E., Fryer T. F., 1966, Identification of the Lactic Acid Bacteria, in Gibbs B. M., Skinner F. A. (eds.), *Identification Methods for Microbiologists*, 1A, 65, New York, Academic Press, 1966.

Veldkamp H., 1970, Saprophytic Coryneform Bacteria, Ann. Rev. Microbiol., **24**, 209.

24 ОБЛИГАТНЫЕ АНАЭРОБЫ, НЕ ОБРАЗУЮЩИЕ СПОР

Облигатные анаэробы, не образующие эндоспор, представляют большую и физиологически разнообразную группу бактерий. Их выделение и культивирование связано со значительными техническими трудностями, вследствие чего об этой группе до недавнего времени было известно довольно мало. Ряд новых методов, разработанных главным образом Хангейтом (R. E. Hungate) при исследовании бактериальной флоры рубца, облегчил изучение этих организмов. Основные особенности таких методов (см. гл. 2, стр. 64) заключаются в использовании предварительно восстановленных сред с низким окислительно-восстановительным потенциалом, выделении бактерий в пробирках с тонким слоем агаризованной среды и в работе с культурами в токе газа, свободного от O_2 . В отличие от клостридий данные организмы не образуют нечувствительных к кислороду покоящихся клеток (эндоспор), и поэтому на всех стадиях развития они быстро погибают под действием кислорода. В настоящее время стало ясно, что некоторые культуры, выделенные до разработки этих новых методов и считавшиеся чистыми, на самом деле таковыми не были; на стр. 259 приведен пример ошибочных выводов, сделанных при работе с такими культурами.

Анаэробы, не образующие спор, составляют три отдельные физиологические подгруппы: *метанобразующие бактерии*, *сульфатредуцирующие бактерии* рода *Desulfovibrio* и ряд организмов, сбраживающих сахара, лактат или аминокислоты. Две последние подгруппы имеют физиологические аналоги среди спорообразующих форм (роды *Desulfotomaculum* и *Clostridium* соответственно; см. гл. 22). Ни одна из метанобразующих бактерий не дает эндоспор.

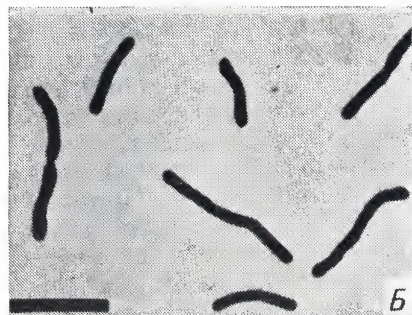
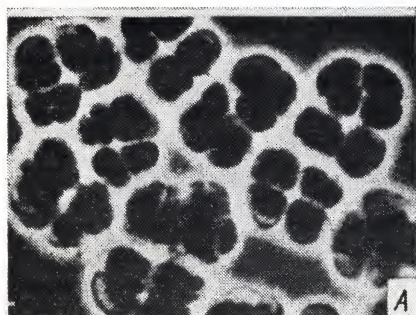
МЕТАНОБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

Биологическое образование метана (CH_4) — геохимически важный процесс, который наблюдается повсюду, где органические вещества подвергаются разложению в анаэробных условиях: в болотах, озерном иле и пищеварительном тракте животных. Этот процесс является результатом метаболической активности небольшой и высокоспециализированной группы бактерий, играющих в этих условиях роль конечных звеньев трофической цепи: они превращают продукты брожения, образованные другими анаэробами (главным образом CO_2 , H_2 и формиат), в метан. Поскольку этот газ малорастворим в воде, он улетучивается из среды, в которой обра-

Рис. 24.1. Фазово-контрастные микрофотографии нескольких метанообразующих бактерий. [Zeikus J. G., Bowen V. G., Comparative ultra-

structure of methanogenic bacteria, Can. J. Microbiol., 21, 121 (1975).] А. *Methanosarcina barkei*. Б. *Methanobacterium thermoautotrophicum*. В.

Methanobacterium ruminantium. Г. *Methanospirillum* sp. Масштабная линия соответствует 5 мкм.



зовался, и в конечном счете вновь окисляется в аэробных условиях облигатными метилотрофами (гл. 18). Метаногенез, происходящий в рубце крупного рогатого скота и овец, усиленно изучался благодаря тому, что он составляет важную часть сложной микробной активности, связанной с пищеварением у жвачных (гл. 28). На заводах по переработке отходов, где сточные воды подвергаются очистке в анаэробных условиях, развитие этих микроорганизмов приводит к образованию больших количеств метана, который часто собирают и используют как источник энергии.

Метанообразующие бактерии — грамвариабельные организмы¹, разделенные на основании морфологических критериев на четыре рода (табл. 24.1, рис. 24.1). Универсальными субстратами для метанообразующих бактерий служат H_2 и

¹ По последним данным, метанообразующие бактерии не содержат в клеточной стенке пептидогликана (мурейна), типичного для других бактерий. — Прим. ред.

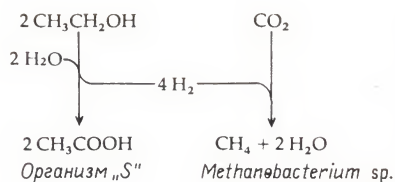


Рис. 24.2. Роль каждого из двух организмов, составляющих «*Methanobacillus omelianskii*», в превращении этанола и CO_2 в ацетат и метан.

ТАБЛИЦА 24.1
ПОДГРУППЫ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Род	Форма клеток	Подвижность	Субстраты для образования метана
<i>Methanobacterium</i> (4 вида)	Палочки, иногда изогнутые	Варьирует	$\text{H}_2 + \text{CO}_2$; формнат у большинства видов
<i>Methanococcus</i> (2 вида)	Кокки	»	$\text{H}_2 + \text{CO}_2$; формнат
<i>Methanosarcina</i> (1 вид)	Кокки в кубических пакетах	Отсутствует	$\text{H}_2 + \text{CO}_2$; метанол, ацетат
<i>Methanospirillum</i> (1 вид)	Спиральная	Полярные жгутики	$\text{H}_2 + \text{CO}_2$; формнат

CO_2 ; некоторые виды используют также формнат, а один вид потребляет метанол и ацетат. Предпочтительным источником азота служит аммоний. Большая часть изученных до настоящего времени штаммов не нуждается в факторах роста, однако некоторые штаммы, выделенные из рубца, нуждаются в жирных кислотах (ацетате, 2-метилбутирате) и недавно открытом ростовом факторе — коферменте М (меркаптоэтансульфоновой кислоте).

Значительная часть ранних биохимических исследований этих организмов была проведена со штаммом, известным как «*Methanobacillus omelianskii*», который, казалось, был способен к сопряжению частичного окисления первичных и вторичных спиртов с восстановлением CO_2 до метана, например, в следующей реакции:



Однако повторная бактериологическая проверка этой предположительно чистой культуры показала, что в ней содержатся два облигатных анаэроба: *Methanobacterium*, образующий метан из CO_2 и H_2 , и неидентифицированная бактерия (организм «S»), окисляющая спирты с образованием H_2 (рис. 24.2). В чистой культуре ни одна из этих бактерий не может расти за счет использования этанола и CO_2 , так как спирты не метаболизируются клетками *Methanobacterium*, а накопление H_2 при окислении спирта подавляет развитие организма «S». Следовательно, двухкомпонентная культура

этих бактерий, которая поддерживалась в лаборатории с тех пор, как она была выделена свыше 20 лет назад, представляет собой хорошо сбалансированный трофический симбиоз.

МЕТАБОЛИЗМ МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Поскольку чаще всего окисляемым субстратом для метанобразующих бактерий служит H_2 , при поверхностном рассмотрении их можно принять за анаэробных аналогов облигатно аэробных водородных бактерий (стр. 99), у которых конечный акцептор электронов O_2 замещен на CO_2 . Однако более глубокий анализ показывает, что эта аналогия является только кажущейся: метанобразующие бактерии не ассимилируют CO_2 через цикл Кальвина и не обладают цитохромсодержащей цепью переноса электронов, имеющейся у другой группы облигатных анаэробов — сульфатредуцирующих бактерий. Многие стороны промежуточного метаболизма метанобразующих бактерий все еще не выяснены, и изучение их биохимии в основном касается механизма образования метана.

Бесклеточные экстракты этих организмов могут образовывать метан из субстратов, перечисленных в табл. 24.2.

ТАБЛИЦА 24.2

СУБСТРАТЫ, ИЗ КОТОРЫХ БЕСКЛЕТОЧНЫЕ ЭКСТРАКТЫ
МЕТАНОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ СИНТЕЗИРУЮТ МЕТАН¹⁾

*CO_2 ; CH_3CO^*OON ; $CH_2ON^*CHNH_2COON$; *HCOON ; *CH_3ON ; $^*H^*NO$;
5, *CH_3 -тетрагидрофолат; 5,10, *CH_2 -тетрагидрофолат; *CH_3 -кобаламин (витамин B_{12})

¹⁾ Звездочка показывает атом углерода, который входит затем в состав метана.

В опытах с клетками или экстрактами, в которых в качестве субстрата использовали $^{14}CO_2$, не было обнаружено менее восстановленных промежуточных продуктов, чем метилированные соединения (CH_3-R). Это дает основание заключить, что образованное из CO_2 активированное C_1 -соединение на ранних стадиях восстановления прочно связано с ферментами. Как показано в табл. 24.2, в конечные реакции, ведущие к образованию метана, вовлекаются в качестве переносчиков метильных групп как тетрагидрофолат, так и кобаламин (витамин B_{12}). При наличии H_2 и АТФ экстракты превращают метильную группу метилкобаламина в метан. В данной реакции в качестве переносчика метильной группы участвует кофермент М (меркаптоэтансульфоновая кислота). Это вещество обнаружено только в клетках метанобразующих бактерий и для некоторых штаммов служит фактором

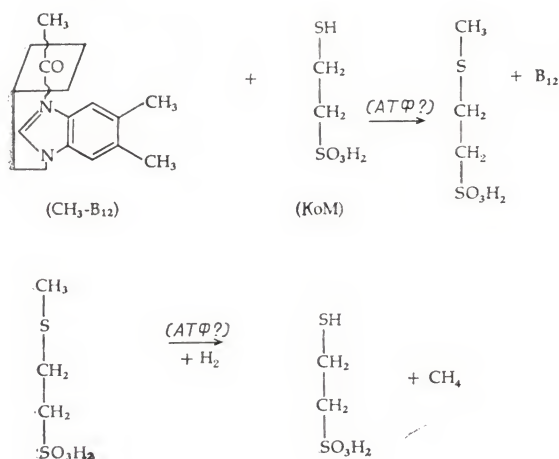


Рис. 24.3. Конечные этапы образования метана.

роста. Конечные реакции, ведущие к образованию метана, схематически показаны на рис. 24.3.

Механизм синтеза АТФ у метановых бактерий неизвестен. Внутриклеточный пул АТФ быстро снижается при воздействии на клетки хлорзамещенных углеводов (например, хлороформа), полностью ингибирующих образование метана, или соединений, подавляющих окислительное фосфорилирование (например, 2,4-динитрофенола).

РОД *DESULFOVIBRIO*

У всех организмов, использующих сульфат в качестве источника серы, его восстановление до сульфида является нормальной биосинтетической реакцией. Этот процесс *ассимиляционного восстановления сульфата* (гл. 7) отличается по ферментативному механизму и по метаболической функции от использования сульфата в качестве конечного акцептора электронов (*диссимиляционного восстановления сульфата*). Последний процесс ограничен двумя группами облигатных анаэробов: спорообразующими бактериями рода *Desulfotomaculum* (гл. 22) и *Desulfovibrio*.

Типичное местообитание организмов, осуществляющих диссимиляционное восстановление сульфата, — анаэробные осадки, содержащие органические вещества и сульфат. В результате деятельности этих организмов происходит образование больших количеств H_2S , что нередко приводит к развитию в лежащих выше слоях воды пурпурных и зеленых серобактерий, которые используют образованный сульфат-редуцирующими организмами H_2S в качестве фотосинтетического донора электронов, вновь окисляя его в анаэробных условиях на свету до сульфата. Поэтому совместная дея-

тельность сульфатредуцирующих организмов и анаэробных фотосинтезирующих бактерий приводит в действие анаэробный цикл превращений серы.

Не образующие спор сульфатредуцирующие бактерии рода *Desulfovibrio* — грамотрицательные изогнутые палочки с полярным жгутикованием (табл. 24.3). Эти организмы не

ТАБЛИЦА 24.3
СВОЙСТВА ВИДОВ *DESULFOVIBRIO*

Признак	<i>D. desulfuricans</i>	<i>D. vulgaris</i>	<i>D. salicigenens</i>	<i>D. africanus</i>	<i>D. gigas</i>
Форма клеток	Вибрионидная	Вибрионидная	Вибрионидная	Сигмоидная	Спиральная
Жгутикование	Один полярный жгутик	Один полярный жгутик	Один полярный жгутик	Полярные пучки жгутиков	Полярные пучки жгутиков
Нуклеотидный состав ДНК, мол. % ГЦ	55	61	46	61	60
Используемые субстраты					
а) В присутствии сульфата					
Лактат	+	+	+	+	+
Малат	+	—	+	+	—
Пируват	+	+	+	+	+
Этанол					+
б) В отсутствие сульфата					
Пируват	+	—	—	—	—
Фумарат	+	—	—	—	+
Потребность в NaCl	—	—	+	—	—

способны окислять ацетат¹, вследствие чего он является конечным продуктом при окислении ими органических субстратов. К широко используемым субстратам относятся малат и лактат, окисление которых до ацетата идет через ацетил-КоА и сопровождается фосфорилированием на уровне субстрата (рис. 24.4). Некоторые из этих организмов могут также сбраживать пируват, малат или фумарат в отсутствие сульфата: в этих условиях ацетат образуется, как показано на рис. 24.4, а окислительно-восстановительный баланс поддерживается путем восстановления части субстрата, причем пируват превращается в лактат, а малат и фумарат — в сукцинат.

Определенные штаммы *Desulfovibrio* могут восстанавливать сульфат за счет молекулярного водорода. Однако они не способны расти на минеральной среде при наличии H₂ и CO₂, поскольку CO₂ не может служить единственным ис-

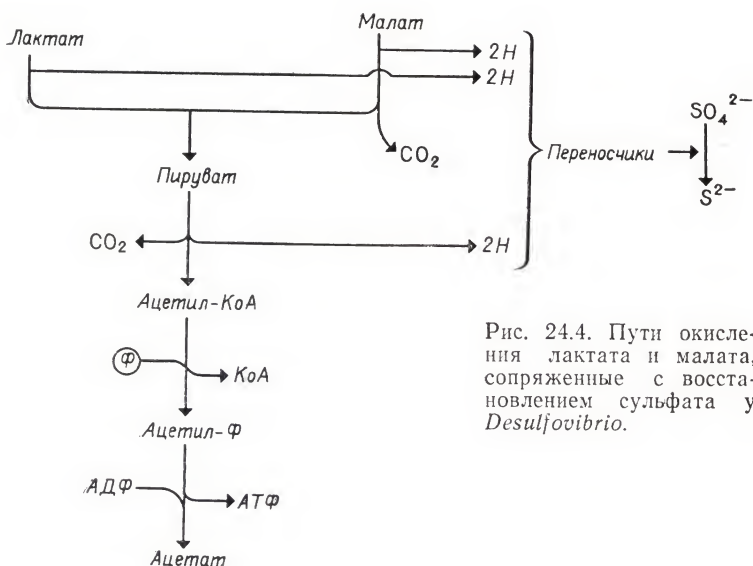


Рис. 24.4. Пути окисления лактата и малата, сопряженные с восстановлением сульфата у *Desulfovibrio*.

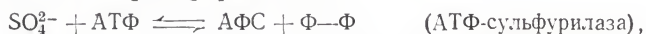
точником углерода. Для их роста необходим также ацетат. Синтез углеродсодержащих веществ клетки из ацетата и CO₂ сводится, вероятно, к ферредоксин-зависимому восстановительному синтезу пирувата, что, как известно, имеет место у некоторых клостридий, а также у пурпурных и зеленых бактерий:



Таким образом, группа *Desulfovibrio* не является, строго говоря, хемоавтотрофной, так как существенная часть углерода их клеток всегда происходит из органического источника. Для этих организмов единственным источником азота может служить аммиак, но многие из них являются также азотфиксаторами.

МЕХАНИЗМ ДИССИМИЛЯЦИОННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУЛЬФАТА

Восстановление сульфата в сульфид включает перенос четырех пар электронов. При диссимиляционной сульфатредукции восстановление сульфата в сульфит осуществляется комплексом из трех ферментов:



По механизму это превращение сходно с окислением SO₃²⁻ в SO₄²⁻ тиаобациллами и пурпурными серобактериями; у всех трех групп организмов ключевым промежуточным продуктом

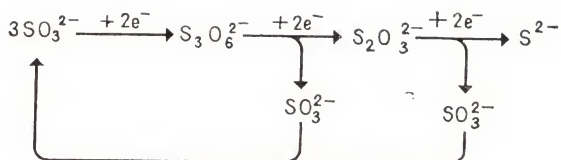


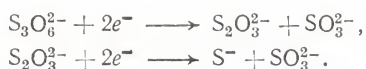
Рис. 24.5. Путь образования сульфида из сульфита у сульфатредуцирующих бактерий.

является аденозинфосфосульфат (АФС). Однако ассимиляционное восстановление сульфата происходит через другой активированный промежуточный продукт — фосфоаденозинфосфосульфат¹ (см. т. 1, стр. 262).

Путь восстановления сульфита в сульфид был выяснен лишь недавно в первую очередь благодаря обнаружению каталитической функции зеленого белка — десульфовиридина. Этот белок, содержащийся в большом количестве у десульфовибрионов, был выделен почти 20 лет назад, но тогда не удалось установить его функцию. В настоящее время десульфовиридин идентифицирован как сульфитредуктаза, катализирующая реакцию



Два других фермента (тритионат- и тиосульфатредуктаза) превращают тритионат в сульфид с образованием на каждом этапе сульфита:



Следовательно, восстановление сульфита десульфовибрионами — трехступенчатый процесс, сопровождающийся циклической регенерацией сульфита (рис. 24.5). Восстановление сульфита спорообразующими бактериями рода *Desulfotomaculum* идет по тому же пути, однако эти организмы не содержат десульфовиридина; их сульфитредуктаза имеет химически сходную простетическую группу, но с другими спектральными свойствами.

Ступенчатое восстановление сульфита, характерное для *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, по своему механизму отличается от ассимиляционного восстановления сульфита, которое катализируется одним ферментом. Такая ассимиляционная сульфитредуктаза превращает сульфит в сульфид без образования свободных промежуточных продуктов.

Все сульфитредуктазы, диссимиляционные и ассимиляционные, содержат химически сходные простетические группы нового класса: они представляют собой восстановленные пор-

фирины, называемые *сирогидрохлоринами*, которые не обнаружены ни в одном ферменте какого-либо другого типа. Различия в спектральных свойствах сульфитредуктаз, как видно на примере ферментов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, связаны с присутствием в простетической группе различных комплексообразующих металлов.

ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНОВ И СИНТЕЗ АТФ

В 1954 г. Постгейт (J. Postgate) показал, что дисульфовибрионы в отличие от других известных в то время облигатно анаэробных хемогетеротрофов содержат цитохром типа *c* (цитохром c_3). Это было первым указанием на то, что сульфат-зависимое анаэробное дыхание, возможно, связано с функционированием цепи переноса электронов, аналогичной такой же цепи аэробного дыхания. В дальнейшем у десульфовибрионов были идентифицированы и другие компоненты этой анаэробной цепи: другие цитохромы типа *c*, цитохром типа *b*, хинон, флавопротеид и несколько переносчиков электронов, содержащих негеминное железо (ферредоксин, рубедоксин). Таким образом, очевидно, что десульфовибрионы содержат компоненты сложной и специализированной цепи переноса электронов, в которой окисление субстрата сопряжено с различными этапами восстановления сульфата. Нет сомнений, что синтез АТФ связан с переносом электронов через эту цепь; АТФ был обнаружен в бесклеточных экстрактах бактерий в процессе окисления H_2 при использовании в качестве акцептора сульфита; вместе с тем образование АТФ подавлялось такими разобщающими агентами, как 2,4-динитрофенол. Однако детали функционирования этой системы пока еще не известны.

ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ПРИРОДЕ

В подходящей анаэробной среде развитие сульфатредуцирующих бактерий вызывает образование больших количеств H_2S , который часто выделяется в виде нерастворимых сульфидов металлов (например, FeS). Теперь общепризнано, что эти бактерии ответственны за образование сульфидных руд металлов и косвенно природных отложений элементарной серы (образованной в результате вторичного, вероятно небактериального окисления сульфидов).

В заболоченных (и поэтому в основном анаэробных) почвах выделение H_2S сульфатредуцирующими бактериями может вызывать повреждение растений: это обстоятельство иногда является серьезной экономической проблемой при культивировании риса, который сеют на затопляемых полях (рисовых плантациях).

АНАЭРОБЫ, НЕ ОБРАЗУЮЩИЕ СПОР И ОБЛАДАЮЩИЕ БРОДИЛЬНЫМ ТИПОМ МЕТАБОЛИЗМА

Представители этой физиологической группы составляют основную часть внутренней микрофлоры животных, обитающей в таких зонах, которые образуют целый ряд различных бескислородных экологических ниш. В гл. 23 рассмотрены свойства относительно аэротолерантных бродильных анаэробов, родственных актиномицетам. Облигатные анаэробы — это главным образом грамотрицательные палочки и кокки, хотя к ним относятся также и немногие грамположительные кокки. Признаки основных родов суммированы в табл. 24.4 и 24.5. То, что эти бактерии часто встречаются в

ТАБЛИЦА 24.4

ОБЛИГАТНО АНАЭРОБНЫЕ КОККИ С БРОДИЛЬНЫМ ТИПОМ МЕТАБОЛИЗМА

	Грамотрицательные			Грамположительные		
	<i>Veillonella</i>	<i>Acidaminococcus</i>	<i>Megasphaera</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Ruminococcus</i>
Сбраживаемые субстраты						
Целлюлоза, ксилан	—	—	—	—	—	—
Растворимые сахара	—	—	+	B ²	B	+
Лактат	+	—	+	—	—	—
Аминокислоты	—	+	—	+	+	—
Продукты брожения						
CO ₂	+	+	+	+	B	+
H ₂	+	—	Сл ¹	+	B	+
Формиат	—	—	—	+	+	+
Ацетат	+	+	—	+	+	+
Пропионат	+	—	+	+	+	—
Бутират	—	+	+	+	+	—
Валериат	—	—	+	—	+	—
Капронат	—	—	+	—	+	—
Нуклеотидный состав ДНК, мол. % ГЦ	40—44	57	54	36—37	33	40—45
Источник	Полость рта, кишечный тракт	Кишечный тракт	Рубец	Кишечный тракт	Кишечный тракт	Рубец

¹ Обнаружены следы H₂.

² Содержание варьирует.

266 рубце, не означает, что он является их основным местом обитания. Вполне возможно, что многие из бактерий рубца широко распространены и в других отделах желудочно-кишечного тракта животных. Однако микрофлора рубца изучена

ТАБЛИЦА 24.5

ОБЛИГАТНО АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ
С БРОДИЛЬНЫМ ТИПОМ МЕТАБОЛИЗМА

	<i>Bacteroides</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Selenomonas</i>	<i>Lachnospira</i>	<i>Butyrivibrio</i>
Форма клеток	Прямые палочки	Прямые палочки	Серповидные палочки	Изогнутые палочки	Изогнутые палочки
Жгутикование	Перитрихальное (или неподвижные)	Перитрихальное (или неподвижные)	Пучок на вогнутой стороне клетки	Латеральные жгутики	Полярное монотрихальное
Сбраживаемые субстраты					
Сахара	+	+	+	+	+
Аминокислоты	+	+	—	—	—
Продукты брожения	Очень разнообразные, часто включают форминат, ацетат, пропионат, сукцинат, лактат	Разнообразные, основной продукт бутират, а также ацетат, лактат	Ацетат, пропионат, CO ₂ , лактат	Форминат, ацетат, лактат, этанол, CO ₂	Форминат, бутират, лактат, H ₂ , CO ₂
Нуклеотидный состав ДНК, мол. % ГЦ	40—55	26—34	53—61		
Источник	Кишечный тракт, полость рта, рубец	Полость рта, кишечный тракт	Рубец, полость рта	Рубец	Рубец

значительно детальнее, что в первую очередь объясняется той важной ролью, которую она играет в питании жвачных (гл. 28). Некоторые виды *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Peptococcus* и *Peptostreptococcus* причастны к болезням человека или животных. Однако большинство этих бактерий, по-видимому, входят в состав нормальной микрофлоры животных в качестве непатогенных компонентов. Как показано в табл. 24.4 и 24.5, сбраживаемые субстраты и продукты брожения изменяются в зависимости от группы. За исключением бактерий рубца, лишь немногие из этих организмов охарактеризованы полностью. У некоторых видов *Bacteroides* обнаружен цитохром типа *b*; это дает основание предположить, что в данной группе синтез АТФ связан с транспортом электронов, а также происходит на субстратном уровне в процессе сбраживания органических веществ.

Представители рода *Selenomonas* имеют особое строение 267 клеток (рис. 24.6). Их серповидные клетки снабжены пучком



Рис. 24.6. Клетка *Selenomonas*. Благодаря окраске жгутиков выявляется серповидная форма клетки и пучок жгутиков, присоединенный латерально к вогнутой поверхности клетки ($\times 3600$). (Фото представлено С. Ф. Робинсу.)

жгутиков (до 10), прикрепленным вблизи экватора на вогнутой стороне клетки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книга

Hungate R. E., 1966, The Rumen and Its Microbes, New York, Academic Press.

Обзоры и оригинальные статьи

Kingsley V. V., Hoeniger J. F. M., 1973, Growth, Structure and Classification of *Selenomonas*, Bact. Revs., 37, 479.

Lee J. P., LeGall J., Peck H. D., 1973, Isolation of Assimilatory — and Dissimilatory — Type Sulfite Reductases from *Desulfovibrio vulgaris*, J. Bacteriol., 115, 529.

LeGall J., Postgate J. R., 1973, The Physiology of Sulfate-Reducing Bacteria, Advan. Microbiol. Physiol., 10, 82.

Murphy J. J., Siegel L. M., 1973, SisoHEME and Sirohydrochlorin: The Basis of a New Type of Porphyrin-Related Prosthetic Group Common to Both Assimilatory and Dissimilatory Sulfite Reductases, J. Biol. Chem., 248, 6911.

Wolfe R. S., 1971, Microbial Fermentation of Methane, Advan. Microb. Physiol., 6, 107.

25 МИКРООРГАНИЗМЫ КАК ГЕОХИМИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

Современное химическое состояние элементов на поверхности Земли в значительной степени является следствием химической активности живых организмов. Этот факт наглядно иллюстрируется изменениями, которые произошли в земной атмосфере. До возникновения жизни атмосферные газы находились в сильно восстановленном состоянии: азот — в форме аммиака (NH_3), кислород — в виде воды (H_2O), а углерод — в виде метана (CH_4). В настоящее время они существуют в окисленной форме: азот и кислород — в виде простых газов (N_2 и O_2), а углерод — в виде двуокси углерода (CO_2). Количество этих и многих других веществ, обнаруженных на поверхности Земли, отражает равновесие между скоростями их образования и использования в биологических и геологических процессах. Такие превращения происходят во всех областях Земли, содержащих живые организмы и в совокупности называемых *биосферой*. Биосфера охватывает океаны, пресные водоемы, почву континентов и нижнюю часть атмосферы. Эта тонкая оболочка жизни на поверхности Земли находится в более или менее устойчивом состоянии, которое поддерживается круговоротом необходимых для жизни элементов и непрерывным притоком энергии Солнца.

Различные этапы круговорота элементов осуществляются организмами разного типа. Таким образом, непрерывное существование каждой отдельной группы организмов зависит от химического превращения элементов, осуществляемого другими группами. Разрыв цикла в какой-либо одной точке прервал бы всякое проявление жизни. Все основные элементы, необходимые для жизни (углерод, кислород, азот, сера и фосфор), подвергаются циклическим превращениям.

Общую картину циклических превращений в биосфере можно представить следующим образом. Благодаря преобразованию солнечной энергии в процессе фотосинтеза в органические соединения, входящие в состав живых организмов, превращаются CO_2 и другие неорганические вещества, извлекаемые из окружающей среды. Основными продуцентами органического вещества посредством фотосинтеза являются одноклеточные водоросли (главным образом диатомовые и динофлагелляты), обитающие в океане, и семенные растения, произрастающие на суше. Накопленное таким способом органическое вещество прямо или косвенно служит источником энергии для всех других форм жизни.

Поскольку фотосинтезирующие организмы служат источниками питания для животных или микроорганизмов, основ-

ные биологически важные элементы сохраняются, по крайней мере частично, в органическом состоянии в процессе превращений, ведущих к включению этих элементов в клетки и ткани первичных потребителей. Первичные потребители сами также могут служить источниками питания для других организмов, вследствие чего все эти элементы сохраняются в органических цепях питания, состоящих из нефотосинтезирующих организмов многих типов. Чтобы снова стать доступными для фотосинтезирующих организмов, они, как правило, должны опять перейти в неорганическую форму. Это превращение, называемое *минерализацией*, происходит в значительной степени благодаря разложению растительных и животных остатков, а также продуктов выделения, осуществляемому микроорганизмами, главным образом грибами и бактериями. Подсчитано, что минерализация 90% органического углерода (т. е. его превращение в CO_2) является результатом метаболической активности этих двух групп микроорганизмов. Остальные 10% образуются в результате метаболизма всех прочих организмов, а также за счет сгорания топлива и других материалов. Огромный вклад микробов в этот процесс отражает повсеместное распространение микроорганизмов, их значительную долю в общем количестве живого вещества (биомассе), высокие скорости их роста и метаболизма, а также совместную способность разрушать самые разнообразные органические вещества, встречающиеся в природе.

МИКРООРГАНИЗМЫ КАК АГЕНТЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ГЕОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПРОСТРАНСТВЕ И ВРЕМЕНИ

Широкая распространенность микроорганизмов во всей биосфере — следствие легкости их расселения по воздуху и воде. Поверхностные воды, дно океанов вдоль континентального шельфа и несколько сантиметров верхнего слоя почвы изобилуют микроорганизмами, легко разрушающими всякое доступное для них органическое вещество. Подсчитано, что верхний слой плодородной почвы толщиной 15 см может содержать около 5 т грибов и бактерий на гектар. Каждая горсть почвы содержит множество различных видов микробов, так как в разные моменты времени в ней создаются микроскопические экологические ниши для их развития. Даже на поверхности отдельной почвенной частицы условия могут быть неодинаковыми в разных точках и меняться с каждым часом.

Рассмотрим, что произойдет после гибели в почве микроскопического корневого волоска или личинки. Органические соединения мертвой ткани подвергнутся атаке микроорганиз-

мов, способных к перевариванию и окислению этих соединений. После поглощения кислорода в непосредственной близости от мертвой ткани условия могут стать анаэробными, что приведет к развитию бродильных организмов. Затем продукты брожения будут диффундировать в те места, где еще присутствует кислород, или они будут окислены анаэробным путем организмами, способными восстанавливать нитраты, сульфаты или карбонаты. В конечном счете органические соединения полностью превратятся в CO_2 или ассимилируются; условия вновь станут аэробными, а за счет таких продуктов, как аммиак, сульфид и водород, разовьются автотрофы. Таким образом, неорганические продукты разложения растений или животных в конце концов полностью окисляются. Эта последовательность событий, происходящих в микроскопическом масштабе на частице почвы, может наблюдаться в природе и в макроскопическом масштабе. Когда в болото падает дерево или на отвали разлагается кит, конечные химические результаты по существу бывают точно такими же. Сезонные или климатические условия могут задерживать или ускорять круговорот веществ. В зонах холодного климата разложение быстрее всего протекает ранней весной; в полувлажных районах оно в основном ограничено сезоном дождей.

В природе размножаются лишь те микроорганизмы, которым благоприятствуют условия места и времени; их рост прекращается, как только они изменяют окружающую среду. В конечном счете большая их часть поедается такими всеядными хищниками, как простейшие, однако несколько клеток каждого типа сохраняется и дает начало множеству новых клеток, когда условия вновь становятся благоприятными для их развития.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРООРГАНИЗМОВ

Чрезвычайно высокая (в относительном смысле) каталитическая активность микроорганизмов является причиной того, что они играют главную роль в химических превращениях, происходящих на поверхности Земли. Благодаря своим небольшим размерам бактерии и грибы обладают по сравнению с животными и высшими растениями высоким соотношением поверхности и объема. Это приводит к быстрому обмену субстратов и продуктов выделения между клеткой и окружающей средой.

Скорости дыхания некоторых аэробных бактерий в расчете на один грамм веса тела в сотни раз превышают скорость дыхания человека. На основе известных скоростей метаболизма микроорганизмов можно рассчитать, что метаболический потенциал микроорганизмов в верхнем 15-сантиметровом слое одного гектара хорошо удобренной почвы в

любой данный момент эквивалентен метаболическому потенциалу нескольких десятков тысяч человек.

Еще более важным фактором, влияющим на ту химическую роль, которую микроорганизмы играют в природе, является высокая скорость их размножения в благоприятных условиях.

МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ГИБКОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Замечательная способность микроорганизмов расщеплять самые разнообразные органические соединения привела к общепринятому убеждению, названному принципом микробной всеядности, который был четко сформулирован Гейлом (F. F. Gale) в 1952 г.: «Вероятно, не будет ненаучно предположить, что где-то существует какой-то организм, который при подходящих условиях может окислять любое вещество, теоретически способное к окислению». По мере увеличения производства пластмасс, а также синтетических инсектицидов, гербицидов и детергентов становится все более очевидным, что некоторые вещества обладают исключительной устойчивостью к микробному воздействию, поскольку они сохраняются и накапливаются в природе. Довольно устойчивыми иногда оказываются даже некоторые природные органические соединения; они накапливаются в почве и составляют ее органическую часть, называемую *гумусом*, который придает плодородной почве темно-коричневый или черный цвет. В связи с важностью гумуса для сельского хозяйства были проведены многочисленные исследования этой сложной смеси стойких органических соединений. Оказалось, что она состоит в значительной степени из продуктов деградации чрезвычайно стабильного компонента древесных растений, называемого *лигнином*. Об удивительной устойчивости гумуса свидетельствуют данные по радиоактивному распаду углерода: возраст гумуса некоторых почв измеряется тысячелетиями.

Кроме этих нескольких исключений, большинство остальных органических соединений, уже не являющихся частью живых организмов, быстро минерализуются микроорганизмами биосферы.

Хотя некоторые нефотосинтезирующие микроорганизмы (например, группа *Pseudomonas*) могут «атаковать» самые разные органические соединения, метаболическое многообразие микробного мира *в целом* не является следствием метаболической гибкости его индивидуальных представителей. Каждый отдельный вид бактерий обладает лишь ограниченной способностью разлагать те или иные вещества. Высокоспециализированные физиологические группы микроорганизмов играют важную роль в минерализации особых классов органических соединений. Например, разложение целлюлозы, которая количественно представляет один из основных ком-

понентов растительных тканей, осуществляется главным образом высокоспециализированными в пищевом отношении организмами. Среди аэробных бактерий, способных к расщеплению целлюлозы, наиболее важными являются, по-видимому, скользящие бактерии, принадлежащие к группе *Cytophaga* (стр. 175). Цитофаги быстро растворяют и окисляют это нерастворимое соединение — единственное вещество, которое они могут использовать в качестве источника углерода.

Напомним, что автотрофные бактерии, ответственные за окисление восстановленных неорганических соединений, также высокоспецифичны. Автотрофы каждого типа могут окислять неорганические соединения только одного класса, а в некоторых случаях (нитрифицирующие бактерии) — лишь одно соединение.

КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ

Циклические превращения элементов, из которых построены живые организмы, в совокупности составляют *круговорот веществ*. На различных этапах циклов участвуют разные организмы, однако вклад микроорганизмов особенно важен как в количественном (рассмотренном выше), так и в качественном отношении. Например, определенные этапы круговорота азота осуществляются исключительно прокариотами.

КРУГОВОРОТ ФОСФОРА

С химической точки зрения круговорот фосфора является достаточно простым, так как фосфор встречается в живых организмах только в пятивалентном состоянии в виде свободных фосфатных ионов (PO_4^{3-}) или в виде органических фосфатных компонентов клетки. Живые клетки неспособны поглощать большинство органических фосфорсодержащих соединений; их потребности в фосфоре удовлетворяются в результате поглощения фосфатных ионов, из которых внутри клетки синтезируются затем органические фосфорсодержащие соединения. После смерти организма фосфатный ион вновь освобождается при гидролизе этих соединений.

Несмотря на быстрое функционирование круговорота фосфора и относительное обилие фосфатов в почвах и горных породах, фосфат служит фактором, ограничивающим рост многих организмов, так как большая часть земных запасов фосфора находится в виде нерастворимых солей кальция, железа или алюминия. Пресная вода часто содержит фосфатные ионы лишь в следовых количествах, и они становятся доступными для животных только после их концентрирования фитопланктоном.

Растворимые фосфаты постоянно переносятся из почвенной среды в море вследствие выщелачивания; такой перенос

в основном является однонаправленным. Только небольшие количества фосфатов возвращаются на сушу, главным образом в виде отложений гуано морскими птицами. Таким образом, доступность фосфата для сухопутных форм жизни зависит от непрерывного перевода в раствор нерастворимых фосфатных отложений — процесса, в котором важную роль играют микроорганизмы. Кислые продукты их метаболизма (органические, а также азотная и серная кислоты) растворяют фосфат кальция, а образованный ими H_2S способствует растворению фосфатов железа.

КРУГОВОРОТ УГЛЕРОДА И КИСЛОРОДА

Циклические превращения углерода и кислорода осуществляются главным образом в результате двух процессов — *кислородного фотосинтеза*, с одной стороны, и *дыхания* и *горения* — с другой. Именно путем кислородного фотосинтеза основная часть окисленной формы углерода (CO_2) переходит в восстановленное состояние, в котором он находится в органических соединениях, а восстановленная форма кислорода (H_2O) окисляется до молекулярного кислорода (O_2). Хотя другие автотрофы могут восстанавливать CO_2 до органического вещества, окисляя соединения, отличные от воды (NH_3 , NO_2^- , H_2 , Fe^{2+} и восстановленные формы серы), вклад этих процессов в общую фиксацию CO_2 незначителен.

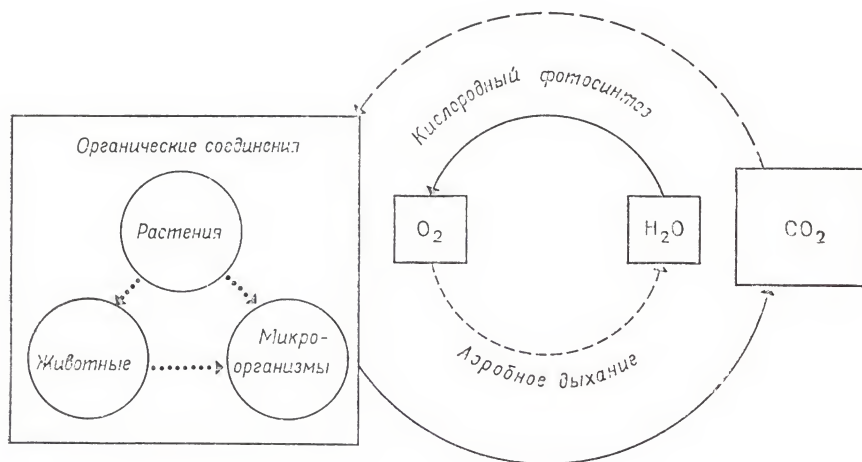
Гетеротрофный метаболизм, прямо или косвенно сопряженный с восстановлением молекулярного кислорода, завершает этот цикл путем генерации основных пищевых субстратов для кислородного фотосинтеза: CO_2 и H_2O . Водоросли и растения, а также питающиеся ими животные вносят свой вклад в этот процесс за счет дыхательной активности. Однако основную массу органического вещества окисляют бактерии и грибы. Таким образом, циклические превращения углерода и кислорода облигатно связаны между собой посредством кислородного фотосинтеза, с одной стороны, и аэробного дыхания — с другой (рис. 25.1).

Воздух содержит приблизительно 0,03% CO_2 (по объему), причем эта концентрация поддерживается относительно постоянной в результате динамического равновесия между фотосинтезом и минерализацией. При растворении CO_2 в слегка щелочной воде образуются ионы бикарбоната (HCO_3^-) и карбоната (CO_3^{2-}):



Следовательно, бикарбонат обеспечивает запас углерода для фотосинтеза в водной среде. Бикарбонат, концентрация

Рис. 25.1. Круговорот кислорода показано сплошными стрелками, углерода и кислорода. Окисление углерода и восстановления — точечными, а реакции без изменения валентности — пунктирными стрелками.



которого в воде океанов составляет примерно 0,002 М, обеспечивает резерв CO_2 для атмосферы; океаны удерживают большую часть образованной на суше CO_2 , сохраняя ее концентрацию в воздухе на относительно низком и постоянном уровне.

О важности углеродного цикла лучше всего говорит расчет, показывающий, что вся CO_2 атмосферы в случае отсутствия ее пополнения была бы полностью исчерпана при современной скорости фотосинтеза менее чем за 20 лет. Этот вывод не покажется преувеличением, если представить себе, что углерод, содержащийся в отдельном экземпляре гигантской секвойи, эквивалентен его количеству, присутствующему в атмосфере над площадью свыше 16 гектаров. На суше семенные растения являются основными организмами, проявляющими фотосинтетическую активность. Водоросли вносят здесь лишь небольшой вклад в фотосинтез. Однако в океанах именно одноклеточные фотосинтезирующие организмы играют наиболее важную роль в фотосинтезе. Развитие крупных растениеподобных водорослей (морской травы) ограничено относительно узкой прибрежной полосой. Так как свет с фотосинтетически эффективной длиной волны в основном проникает только до глубины около 15 м, эти прикрепленные водоросли не могут расти в более глубоких местах. Микроскопические водоросли океана (называемые фитопланктоном) благодаря свободному плаванию способны развиваться в поверхностных слоях воды повсюду, где для них создаются благоприятные условия. Их рост ограничивается в основном относительной нехваткой двух элементов: фосфо-

ра и азота. Там, где эти элементы в виде фосфатов и нитратов поступают с дождевой водой с континентов, а затем распределяются в поверхностных слоях воды океаническими течениями, наблюдается обильное развитие фитопланктона. Согласно одному из расчетов, общая ежегодная фиксация углерода в океанах достигает приблизительно $1,2 \cdot 10^{10}$ т, тогда как фиксация на суше составляет около $1,6 \cdot 10^{10}$ т.

Хотя кислородный фотосинтез несомненно является наиболее важным способом восстановления CO_2 до органического вещества, определенную, хотя и небольшую, роль в этом играют и другие процессы. Это фотосинтез, осуществляемый пурпурными и зелеными бактериями, восстановление CO_2 хемоавтотрофами и гетеротрофная фиксация следовых количеств CO_2 в ходе метаболизма большинством организмов.

ПРОЦЕССЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ: ОБРАЗОВАНИЕ ДВУОКИСИ УГЛЕРОДА И ВОССТАНОВЛЕНИЕ КИСЛОРОДА

Биологическое превращение органического углерода в CO_2 , сопровождающееся восстановлением молекулярного кислорода, требует совместной метаболической активности разнообразных микроорганизмов. Сложные составные части мертвых клеток должны быть переварены, а продукты переваривания должны быть окислены специализированными организмами, которые могут использовать их в качестве пищевых веществ. Многие аэробные бактерии (псевдомонады, бациллы, актиномицеты), а также грибы осуществляют полное окисление органических веществ, образовавшихся из мертвых клеток. Однако следует помнить, что даже те организмы, которые образуют CO_2 в качестве единственного продукта, выделяющегося при расщеплении органических соединений в процессе дыхания, обычно используют значительную часть субстрата для синтеза вещества собственных клеток. В анаэробных условиях органические соединения первоначально расщепляются путем сбраживания, а органические конечные продукты брожения окисляются далее в результате анаэробного дыхания, если имеются подходящие неорганические акцепторы водорода (нитрат, сульфат или CO_2).

ИЗЪЯТИЕ УГЛЕРОДА ИЗ КРУГОВОРОТА: НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ОТЛОЖЕНИЯ

Карбонатные ионы, содержащиеся в морской воде, соединяются с растворенными в ней ионами кальция и осаждаются в виде карбоната кальция. Последний откладывается также биологическим путем в известковых структурах простейших, кораллов и моллюсков. Таково происхождение известняковой горной породы (известняка), представляющей собой важный компонент поверхности материков. Карбонат кальция недоступен в качестве прямого источника углерода для

фотосинтезирующих организмов, и поэтому образование известняков приводит к истощению общего запаса углерода, доступного для жизни. Тем не менее значительная часть этого углерода в конечном счете возвращается в круговорот благодаря выветриванию горных пород. Образование и переход в раствор карбоната кальция определяются в основном изменениями концентрации водородных ионов; микроорганизмы, в результате жизнедеятельности которых происходят изменения pH в природных средах, косвенно участвуют в обоих этих процессах. Например, такие микробиологические процессы, как восстановление сульфата и денитрификация, приводят к увеличению щелочности среды, что способствует отложению карбоната кальция в океане и других водоемах. Микроорганизмы играют также важную роль как в растворении известняковых отложений на суше, так и в растворении фосфатов за счет образования кислоты в процессах денитрификации, окисления серы и брожения.

ИЗЪЯТИЕ УГЛЕРОДА ИЗ КРУГОВОРОТА: ОРГАНИЧЕСКИЕ ОТЛОЖЕНИЯ

Высокая влажность, вызывающая недостаток кислорода и накопление кислых веществ, иногда особенно благоприятствует накоплению гумуса. Это явление наиболее выражено в торфяных болотах, где с течением времени образуются отложения неполностью разрушенного органического вещества, называемые *торфом*. Эти отложения могут распространяться на десятки метров в глубь болота. Под влиянием сжатия, а также, вероятно, и других физических и химических факторов, действовавших в течение целой геологической эпохи, произошло превращение торфа в каменный уголь. Таким образом, в виде отложений торфа и каменного угля из биосферы изымается большое количество углерода. Другой вид изъятия углерода в органической форме из круговорота представлен отложениями природной нефти и газа (метана).

Со времени промышленной революции добыча человеком органических соединений углерода из земных недр привела к весьма быстрой их минерализации. Хотя значительные запасы еще подлежат разработке, подсчитано, что при современных скоростях потребления большая часть нефти и природного газа будет израсходована за несколько десятилетий.

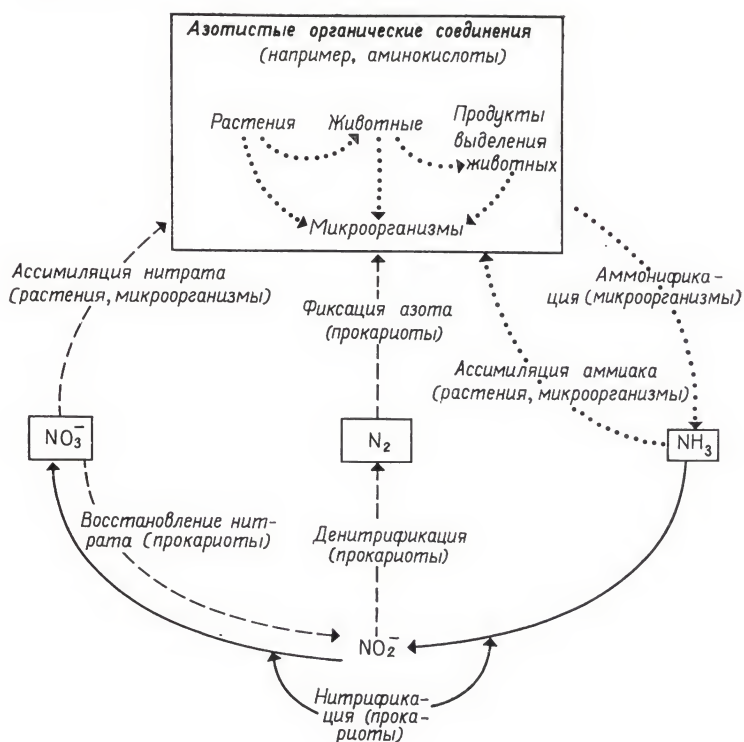
КРУГОВОРОТ АЗОТА

Хотя молекулярный азот имеется в избытке, так как он составляет около 80% земной атмосферы, этот газ химически инертен и поэтому большинство организмов не могут использовать его непосредственно. Питание всех растений и животных, а также большей части микроорганизмов зависит от источников связанного, или фиксированного, азота. Связан-

Рис. 25.2. Круговорот азота. Окисление азота показано сплошными

стрелками, восстановление — точечными, а реакции без изменения ва-

лентности — пунктирными стрелками.



ный азот в форме аммиака, нитрата и органических соединений относительно дефицитен в почве и воде и часто представляет собой фактор, ограничивающий развитие живых организмов. По этой причине циклическое превращение азотистых соединений играет первостепенную роль в снабжении необходимыми формами азота различных по пищевым потребностям организмов биосферы. Основные этапы циклического превращения азота схематически показаны на рис. 25.2.

ФИКСАЦИЯ АЗОТА

Подсчитано, что количество азота, участвующего в круговороте, составляет 10^8 — 10^9 т в год. Тот факт, что в атмосфере имеется неисчерпаемый запас газообразного азота (N_2), тогда как на земной поверхности наблюдается относительный дефицит связанного азота, позволяет предположить, что этапом, ограничивающим скорость круговорота, является процесс фиксации азота. Это в основном биологический процесс, и единственными организмами, способными его осуществ-

лять, являются бактерии (гл. 7). Некоторое количество азота фиксируется при грозовых разрядах, под действием ультрафиолетовых лучей, при работе электрического оборудования и двигателей внутреннего сгорания; однако небиологические процессы такого рода несущественны в количественном отношении, так как все вместе они дают не более 0,5% всего фиксированного азота. Даже вклад промышленного производства удобрения по методу Хабера¹ составляет лишь около 5%. Таким образом, свыше 90% общей фиксации азота обусловлено метаболической активностью определенных бактерий.

Биологическая фиксация азота в природе осуществляется частично свободноживущими бактериями (*несимбиотическая фиксация азота*), а частично бактериями, существующими в сообществе с растениями (*симбиотическая фиксация азота*).

Наиболее важными микроорганизмами, способными к симбиотической фиксации азота, являются бактерии рода *Rhizobium*, внедряющиеся в корневые волоски бобовых растений и развивающиеся в образованных на корнях клубеньках, где и происходит фиксация азота. Ферментативный аппарат для фиксации азота синтезируется бактерией; растение-хозяин обеспечивает условия, благоприятствующие проявлению этого свойства (гл. 27).

К наиболее важным микроорганизмам, осуществляющим несимбиотическую фиксацию азота, относятся цианобактерии, образующие гетероцисты, такие, как *Anabaena* и *Nostoc*. К фиксации азота способен также целый ряд других как аэробных (*Azotobacter*, *Beijerinckia* и *Bacillus polymyxa*²), так и анаэробных бактерий (фотосинтезирующие бактерии и *Clostridium* spp.).

Определение количества фиксированного азота в расчете на один гектар в год (табл. 25.1) показывает, что вклад симбиотических клубеньковых бактерий значительно превышает вклад несимбиотических азотфиксаторов. Среди последних наибольший вклад в фиксацию азота в природных условиях, вероятно, вносят цианобактерии. Однако полученные недавно данные позволяют предположить, что фиксация азота у *Azotobacter* идет с высокой эффективностью тогда, когда эти бактерии развиваются в тесной ассоциации с корнями растений. Поэтому возможно, что их вклад в фиксацию азота до сих пор недооценивался.

Биологическая фиксация азота стала предметом интенсивного исследования, чему способствовали следующие причины: проблема фиксированного азота имеет чрезвычайную важность для сельского хозяйства, в современном мире про-

¹ Путем синтеза аммиака из газообразных H_2 и N_2 . — *Прим. перев.*

² Большое внимание сейчас привлекают бактерии, обитающие в ризосфере злаков, названные *Azospirillum*, которые способны фиксировать N_2 . — *Прим. ред.*

ТАБЛИЦА 25.1

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ СИСТЕМ

Организм или система	Количество фиксированного азота, кг/(га·год) ¹⁾
Симбиотические	
Люцерна: <i>Rhizobium</i>	>296
Клевер: <i>Rhizobium</i>	247
Люпин: <i>Rhizobium</i>	148
Несимбиотические	
Цианобактерии	25
<i>Azotobacter</i> spp.	0,29
<i>Clostridium pasteurianum</i>	0,25

¹⁾ Из книги Е. Н. Мишустина и В. К. Шильниковой (Mishustin E. N., Shilnikova V. K., Biological Fixation of Atmospheric Nitrogen, London, Macmillan, 1971).

исходит продовольственный кризис и, наконец, производство азотных удобрений по методу Хабера требует больших затрат энергии. Важной целью этих исследований является выведение новых растений, способных служить хозяевами для азотфиксирующих симбионтов. Современный список таких растений хотя и широк, но не включает ни главные пищевые сельскохозяйственные культуры — пшеницу и рис, ни основные фуражные культуры злаков.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИКСИРОВАННОГО АЗОТА ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМИ ОРГАНИЗМАМИ

Водоросли и растения ассимилируют азот в виде нитрата или аммиака. Если ассимилируемой формой является нитрат, то он должен быть восстановлен в клетке до аммиака. Количество восстановленного нитрата соответствует такому количеству азота, которое требуется для роста данного организма; аммиак при этом не выделяется. Именно такая особенность отличает *ассимиляцию нитрата* растениями (а также микроорганизмами) от *восстановления нитрата (нитратредукции)* — процесса анаэробного дыхания, существующего только у прокариот (рис. 25.2).

ПРЕВРАЩЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА И ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА

Органические азотистые соединения, синтезируемые водорослями и растениями, служат источниками азота для животных. Сложные азотистые соединения растений в процессе их ассимиляции животными в большей или меньшей степени гидролизуются, однако азот остается в основном в восстановленной органической форме. Тем не менее животные в отличие от растений в процессе метаболизма выделяют значительное количество азотистых соединений. Форма, в которой выделяется этот азот, варьирует от одной группы жи-

вотных к другой. Беспозвоночные выделяют преимущественно аммиак, но у позвоночных наблюдается выделение и органических азотистых продуктов; у пресмыкающихся и птиц основное выделяемое азотсодержащее соединение — это мочевая кислота, а у млекопитающих — мочевина. Выделяемые животными мочевина и мочевая кислота быстро минерализуются особыми группами микроорганизмов с образованием CO_2 и аммиака.

Только часть азота, запасенного в органических соединениях в процессе роста растений, превращается в аммиак в результате обмена веществ у животных, а также при микробном разложении мочевины и мочевой кислоты. Значительное его количество сохраняется в растительных и животных тканях и освобождается лишь после смерти этих организмов. Когда умирает растение или животное, компоненты его тела немедленно подвергаются действию микроорганизмов, и азотистые соединения разрушаются с образованием аммиака. Часть азота ассимилируется самими микроорганизмами и таким образом превращается в компоненты микробной клетки. В конечном счете и эти компоненты переходят в аммиак после отмирания микробов.

Первый этап этого процесса *аммонификации* — гидролиз белков и нуклеиновых кислот с освобождением соответственных аминокислот и органических азотистых оснований, более простых соединений, которые затем также расщепляются в результате дыхания и брожения.

Разрушение белка в анаэробных условиях (*гниение*) обычно не приводит к немедленному освобождению всего аминного азота в виде аммиака. Некоторые аминокислоты превращаются в амины. Гнилостное разложение характерно для деятельности анаэробных спорообразующих бактерий (рода *Clostridium*). В присутствии воздуха амины окисляются другими бактериями с выделением аммиака.

НИТРИФИКАЦИЯ

В процессе всех превращений, которым подвергается азот с момента его ассимиляции растениями до его освобождения в виде аммиака, атом азота остается в восстановленной форме. Превращение аммиака в нитрат (*нитрификация*) осуществляется в природе двумя высокоспециализированными группами облигатно аэробных хемоавтотрофных бактерий. Нитрификация происходит в два этапа: на первом аммиак окисляется до нитрита, на втором нитрит окисляется до нитрата. В результате совместной деятельности этих бактерий аммиак, освобождающийся в процессе минерализации органического вещества, быстро окисляется в нитрат. Таким образом, нитрат — основное азотистое вещество почвы, используемое растениями в процессе роста. Практика удобрения почвы навозом основана на микробной минерализации орга-

нического вещества, которая приводит к превращению органического азота в нитраты путем аммонификации и нитрификации. Еще более простым способом повышения содержания нитратов в почве служит орошение полей разбавленными растворами аммиака, что является одним из современных методов удобрения почв. Аммиак, который можно синтезировать химическим путем из молекулярного азота, — это наиболее концентрированная форма доступного связанного азота, поскольку он содержит около 82% азота по весу. Нитраты представляют собой весьма растворимые соединения, поэтому они легко выщелачиваются из почвы и уносятся водой; следовательно, определенное количество связанного азота постоянно удаляется с континентов и переносится в океаны. В некоторых местностях, особенно в ползасушливых районах Чили, в почве накапливаются отложения нитратов в результате выхода и испарения поверхностных вод. Такие отложения — ценный источник удобрения, хотя их значение существенно снизилось за последние 50 лет вследствие развития химических методов производства азотистых соединений из атмосферного азота.

ДЕНИТРИФИКАЦИЯ

В анаэробных условиях многие аэробные бактерии вместо кислорода могут использовать нитрат в качестве конечного акцептора электронов.

Таким образом, всякий раз, когда при разложении органического вещества в почве или воде кислород исчерпывается в результате дыхания аэробных микроорганизмов, некоторые из этих аэробов в присутствии нитрата продолжают дышать за счет органического вещества, т. е. переходят к анаэробному дыханию. При этом происходит восстановление нитратов. Некоторые бактерии (например, *Escherichia coli*) способны восстанавливать нитрат только до уровня нитрита, другие (например, *Pseudomonas aeruginosa*) могут восстановить его до газообразного азота. В ходе этого процесса, называемого *денитрификацией*, связанный азот удаляется из почвы и воды с освобождением газообразного N_2 в атмосферу.

Денитрификация — процесс, имеющий большое экологическое значение. Он лишает почву необходимого для растений азота, снижая за счет этого продуктивность сельского хозяйства. Особенно значительные потери происходят в удобренных почвах. Хотя точные цифры не известны, но при определенных условиях удобрения могут утрачивать в результате денитрификации до 50% связанного азота.

Тем не менее денитрификация приводит не только к вредным последствиям. Благодаря денитрификации в почве всегда имеется определенное количество связанного азота. Хорошо растворимые ионы нитрата постоянно выщелачиваются

из почвы и в конечном счете переносятся в океаны. При отсутствии денитрификации земной запас азота, включая N_2 атмосферы, в конце концов сосредоточился бы в океанах и жизнь стала бы невозможной на основной части суши, за исключением прибрежной полосы. Денитрификация делает пресную воду пригодной для питья, поскольку высокие концентрации ионов нитрата являются токсичными.

КРУГОВОРОТ СЕРЫ

Сера, необходимый компонент живой материи, в изобилии присутствует в земной коре. Для живых организмов сера доступна в основном в форме растворимых сульфатов или восстановленных органических соединений серы. В результате микробного метаболизма и, в ограниченной степени, за счет вулканической деятельности в биосфере встречается также восстановленная сера в виде сероводорода (H_2S). Однако концентрация его низка, если не считать анаэробных условий, так как в присутствии кислорода сероводород быстро окисляется либо спонтанно, либо с помощью бактерий.

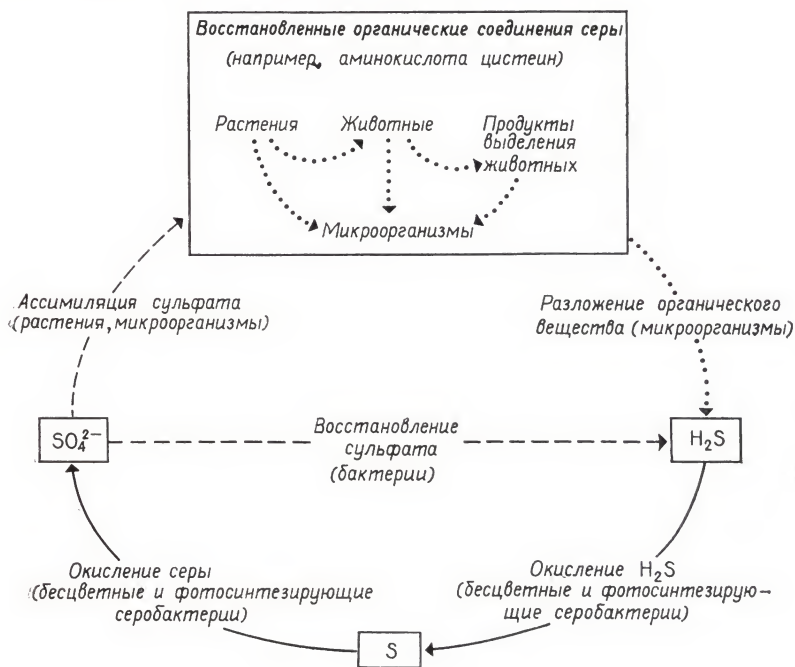
Циклические превращения соединений серы называются *круговоротом серы*. Биологические аспекты этого круговорота показаны на рис. 25.3. Во многих отношениях он обнаруживает большое сходство с уже описанным круговоротом азота.

Кроме биологического круговорота серы в земной атмосфере происходят важные небιологические превращения газообразных форм серы. Подсчитано, что в атмосферу ежегодно выделяется около 90 млн. т серы в форме H_2S , который образуется биологическим путем, еще 50 млн. т в форме SO_2 поставляется путем сжигания ископаемых видов топлива и около 0,7 млн. т в форме H_2S и SO_2 возникает в результате вулканической деятельности. В атмосфере H_2S быстро окисляется до SO_2 атомарным кислородом (O), молекулярным кислородом (O_2) или озоном (O_3). SO_2 может растворяться в воде с образованием сернистой кислоты (H_2SO_3) или окисляться во второй и более медленной серии реакций (требующих нескольких часов или дней) до SO_3 . При растворении в воде SO_3 превращается в серную кислоту (H_2SO_4). Часть серной кислоты нейтрализуется небольшими количествами аммиака, присутствующего в атмосфере, однако основная ее часть возвращается вместе с неокисленной H_2SO_3 на земную поверхность в форме кислоты, вызывающей значительное разрушение различных каменных сооружений. Скорость образования кислых соединений серы повышается по мере увеличения сжигания ископаемого топлива. Эта проблема стоит особенно остро в районах с высокой плотностью населения—здесь уже в наше время происходит быстрое разрушение многих каменных скульптур.

Рис. 25.3. Круговорот серы. Окисление атома серы показано сплошны-

ми стрелками, восстановление — точечными, а реакции без изменения ва-

лентности — пунктирными стрелками.



АССИМИЛЯЦИЯ СУЛЬФАТА

Сульфат используется в качестве питательного вещества почти всеми растениями и микроорганизмами. Ассимиляция сульфата напоминает ассимиляцию нитрата в двух отношениях. Во-первых, сульфат, подобно нитрату, должен быть восстановлен, чтобы сера могла включиться в органические соединения, так как в живых организмах сера встречается почти исключительно в восстановленной форме в виде сульфгидрильных ($-\text{SH}$) или дисульфидных ($-\text{S}-\text{S}-$) групп. Во-вторых, в обоих случаях ассимилируется ровно столько питательных веществ, содержащих серу или азот, сколько их необходимо для роста организма; поэтому никакие восстановленные продукты метаболизма серы или азота не выделяются в окружающую среду.

ПРЕВРАЩЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ И ОБРАЗОВАНИЕ H_2S

При минерализации органических серосодержащих соединений сера освобождается в неорганической восстановлен-

ной форме в виде H_2S . Этот процесс напоминает аммонификацию, при которой азот выделяется из органического вещества в неорганическом восстановленном состоянии в виде аммиака.

ПРЯМОЕ ОБРАЗОВАНИЕ H_2S ИЗ СУЛЬФАТА

Использование сульфата для синтеза серосодержащих компонентов клетки и последующее разложение этих соединений приводят к тому, что сульфат полностью восстанавливается до H_2S . Более прямым путем H_2S образуется также из сульфата за счет деятельности сульфатредуцирующих бактерий. Эти облигатно анаэробные бактерии окисляют органические соединения и молекулярный водород при посредстве сульфата как окисляющего агента. Поэтому их роль в круговороте серы можно сравнить с ролью нитратредуцирующих бактерий в круговороте азота. Деятельность сульфатредуцирующих бактерий особенно заметна в иле на дне прудов и ручьев, в болотах и вдоль побережья моря. Так как концентрация сульфата в морской воде относительно высока, восстановление сульфата — важный фактор минерализации органического вещества на морских отмелях. Признаками такой минерализации служат запах H_2S и черный как смоль ил, в котором протекает этот процесс. Черный цвет ила обусловлен присутствием в нем больших количеств сульфида двухвалентного железа. Некоторые береговые области, где накопление органического вещества ведет к особенно интенсивному восстановлению сульфата, практически безжизненны из-за токсического действия H_2S .

ОКИСЛЕНИЕ H_2S И СЕРЫ

H_2S , образующийся в биосфере в результате разложения серосодержащих соединений, восстановления сульфата и вулканической деятельности, в основном превращается в сульфат. Лишь небольшая его часть выводится из круговорота в виде нерастворимых сульфидов или (после самопроизвольного окисления кислородом) элементарной серы.

Биологическое окисление H_2S и элементарной серы осуществляется фотосинтезирующими и хемоавтотрофными бактериями. Оно может происходить в аэробных условиях под воздействием бесцветных серобактерий или в анаэробных с помощью фотосинтезирующих пурпурных и зеленых серобактерий. Так как такие окислительные реакции приводят к образованию ионов водорода, они вызывают местное закисление почвы. Серу обычно добавляют к щелочным почвам, чтобы увеличить их кислотность.

КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Области биосферы, не находящиеся в прямом контакте с атмосферой, длительное время могут оставаться лишенными кислорода. Такие анаэробные условия благоприятствуют развитию особых микроорганизмов. При наличии света эти микроорганизмы способны осуществлять практически замкнутый анаэробный круговорот веществ.

В этих условиях первичный синтез органического вещества производят фотосинтезирующие бактерии. Пурпурные и зеленые серобактерии превращают CO_2 в клеточные вещества, используя в качестве восстановителя H_2S . Несерные пурпурные бактерии почти целиком ассимилируют ацетат и другие простые органические соединения. После отмирания фотосинтезирующих бактерий органические компоненты их клеток разрушаются клостридиями и другими анаэробами путем брожения с образованием CO_2 , H_2 , NH_3 , органических кислот и спиртов. Водород и некоторые из органических продуктов брожения окисляются анаэробно сульфатредуцирующими и метанобразующими бактериями. Процессы анаэробного окисления, осуществляемые сульфатредуцирующими организмами, дают H_2S и ацетат, которые в свою очередь используются фотосинтезирующими бактериями. Метаболизм метанобразующих бактерий приводит к превращению CO_2 и части органического углерода (например, метильной группы уксусной кислоты) в метан. Современные данные позволяют предполагать, что в анаэробных условиях метан не может подвергаться дальнейшим метаболическим превращениям. Однако значительная его часть проникает в аэробные области, где он окисляется *Methanomonas* и другими аэробными метанокисляющими бактериями. Потеря метана составляет единственную существенную утечку из анаэробного круговорота веществ. Анаэробный круговорот серы полностью замкнут вследствие взаимопревращения сульфата и H_2S в результате совместной деятельности сульфатредуцирующих и фотосинтезирующих бактерий. Анаэробный круговорот азота также замкнут и по сравнению с круговоротом этого элемента в аэробных условиях намного проще в химическом отношении: атом азота не изменяет свою валентность и входит в состав либо аммиака, либо аминогрупп ($\text{R}-\text{NH}_2$) азотсодержащих элементов клетки.

Поскольку все участники анаэробного круговорота веществ являются микроорганизмами, этот цикл не требует много пространства. Фактически такой цикл можно создать в лаборатории — в закрытом сосуде, содержащем соответствующие питательные вещества, а также воду или ил из анаэробного источника. При обеспечении достаточного освещения

развитие микроорганизмов в таком сосуде будет продолжаться в течение нескольких лет.

КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ

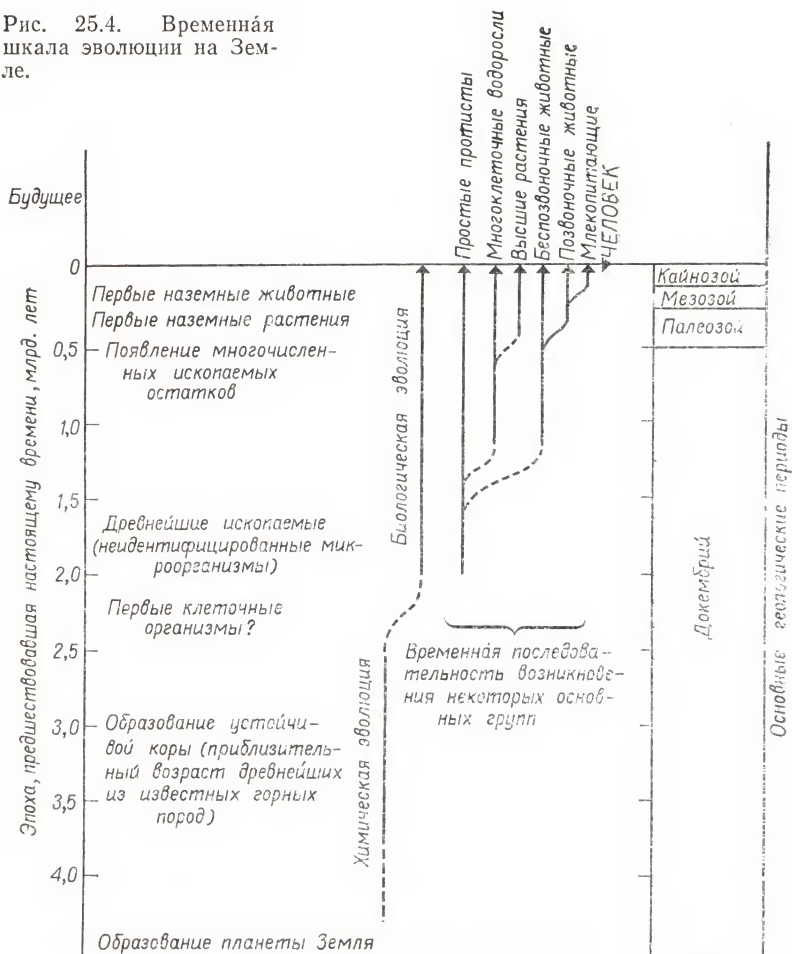
НА ПРОТЯЖЕНИИ ГЕОЛОГИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ ЗЕМЛИ

Реакции, в совокупности составляющие круговорот веществ, приводят к сбалансированному образованию и потреблению биологически важных элементов в биосфере. Вполне вероятно, что круговорот веществ, который известен нам сейчас, функционировал без существенных изменений по крайней мере в течение миллиардов лет. Однако есть достаточные основания полагать, что круговорот веществ в ранний период истории Земли, когда на планете впервые появились биологические системы, значительно отличался от современного (рис. 25.4).

Как уже говорилось в начале этой главы, химические элементы, являющиеся основными компонентами живых организмов, до возникновения жизни на Земле существовали, по-видимому, в восстановленной форме. Молекулярный кислород в атмосфере отсутствовал. В настоящее время считается общепризнанным, что появлению живых систем предшествовал длительный период химического синтеза органических веществ с помощью реакций между восстановленными компонентами атмосферы, катализируемых ультрафиолетовыми лучами и грозовыми разрядами. Продукты этих реакций накапливались в первичном океане и подвергались дальнейшим превращениям. Такие реакции были воспроизведены в лаборатории. Если предполагаемые компоненты первичной атмосферы Земли (метан, аммиак и воду) подвергать воздействию ультрафиолетовых лучей или электрических разрядов, то образуется большой набор различных органических соединений. Среди них имеются компоненты живой материи, включая сахара, аминокислоты, пурины и пиримидины. Если в смеси присутствует фосфат, то образуются нуклеотиды (в том числе АТФ). В присутствии H_2S возникают серосодержащие аминокислоты. В условиях, способствовавших восстановительным реакциям, и в отсутствие живых организмов, эти соединения, возможно, накапливались на первобытной Земле.

Образование в результате химических взаимодействий еще более сложных органических соединений и молекулярных агрегатов в конце концов привело к возникновению самоудваивающихся систем, и с этого момента началась биологическая эволюция. Первые живые системы, вероятно, имели весьма ограниченные синтетические способности, и для получения энергии они использовали реакции брожения. По мере их роста и распространения предсуществующий запас органического сырья постепенно истощался, что благоприят-

Рис. 25.4. Временная шкала эволюции на Земле.



ствовало появлению организмов, синтетические способности которых становились все более выраженными. На относительно ранней стадии этой первичной биохимической эволюции, должно быть, произошло истощение запаса богатых энергией органических соединений; следовательно, дальнейший ход биологической эволюции зависел от приобретения некоторыми организмами способности использовать свет в качестве источника энергии. Поэтому одним из наиболее ранних и важных этапов биохимической эволюции было возникновение механизмов для осуществления фотосинтеза. Первые фотосинтезирующие организмы, по всей вероятности, были анаэробами, сходными по типу фотосинтетического метаболизма с современными пурпурными и зелеными бактериями.

Ранняя эволюция фотосинтезирующих организмов достигла кульминации с появлением таких форм, как цианобактерии, способные использовать воду в качестве восстановителя при фотосинтетической ассимиляции CO_2 . С достижением этого этапа в атмосфере начал накапливаться продукт окисления воды — молекулярный кислород, создавая условия, необходимые для эволюции организмов, получающих энергию путем аэробного дыхания. Благодаря наличию молекулярного кислорода в биосфере стали преобладать окисленные формы азота и серы (нитрат и сульфат), и, наконец, наступило время для установления такого круговорота веществ, какой существует сегодня.

ВЛИЯНИЕ ЧЕЛОВЕКА НА КРУГОВОРОТ ВЕЩЕСТВ

Появление человека как члена биологического сообщества вначале существенно не повлияло на круговорот веществ на Земле. Однако постепенно такое положение изменилось. Это было вызвано наблюдающимся со времени промышленной революции быстрым увеличением общей численности и локальной плотности населения в сочетании со все возрастающей способностью человека видоизменять окружающую его среду. За последнее столетие эти факторы привели к локальным преобразованиям внешней среды, сравнимым по масштабу с теми, которые происходили при крупных геологических переворотах в прошлой истории планеты. Развитие сельского хозяйства, уничтожение лесов, разработка недр и сжигание ископаемых видов топлива, а также загрязнение окружающей среды бытовыми и промышленными отходами оказывают глубокое влияние на распределение и развитие других форм жизни.

ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД

Вследствие концентрации населения в больших городах, темпы которой все более возрастают за последние 150 лет, уничтожение органических отходов, как бытовых, так и промышленных, стало важнейшей экологической проблемой. Сброс необработанных городских отходов в примыкающие реки и озера таит в себе опасность загрязнения питьевой воды микробными возбудителями кишечных болезней и опасность истощения запаса растворенного кислорода в результате микробного разложения органического вещества, что ведет к гибели животных. В целях здравоохранения и охраны природы человек был вынужден разработать методы *очистки сточных вод*, обеспечивающие минерализацию органических компонентов перед их сбросом в окружающую природную среду.

Очистка сточных вод обычно сводится к тому, что сначала они подвергаются отстаиванию. Осадок, или ил, пре-

терпевает медленное анаэробное разложение, в котором важную роль играют метанобразующие бактерии. Растворимые органические соединения в надосадочной жидкости минерализуются в аэробных условиях. Иногда это достигается разбрызгиванием жидкости над рыхлым слоем гальки, через которую жидкость просачивается под действием силы тяжести. При использовании для очистки *активного ила* через сточные воды продувается воздух; при этом образуются хлопья или осадок, в частицах которого содержатся активные микроорганизмы-окислители. После того как органическое вещество в основном окислилось, илу дают осесть. Ил, образовавшийся как при анаэробном распаде, так и в окислительных процессах, состоит главным образом из бактерий, которые выросли за счет питательных веществ сточных вод. Этот остаток высушивают и используют как удобрение либо непосредственно, либо после сжигания.

Целью всех процессов очистки сточных вод является образование такого конечного жидкого стока, в котором биологически важные элементы находятся в неорганической форме. Поэтому очистка сточных вод включает в себя интенсивную работу определенных этапов круговорота веществ при более или менее контролируемых условиях. Однако даже тот конечный сток, в котором произошла полная минерализация, может оказывать нежелательные экологические воздействия. Если он сбрасывается в озеро, то возникающее при этом обогащение озерной воды нитратами и фосфатами может вызывать чрезмерное размножение водорослей, в результате чего вода в определенные периоды окрашивается и мутнеет. При достаточно массовом росте водорослей последующее разложение их органического вещества может истощить в озере запас растворенного кислорода, что приведет к катастрофическим последствиям для его животного мира. Такая постепенная биологическая деградация пресноводных водоемов, первоначально происходившая в относительно небольших озерах вблизи городов, в настоящее время приобрела широкие масштабы (серьезное положение создалось в некоторых водоемах Великих озер в Северной Америке, особенно в озере Эри).

Угроза, которую представляет для внутренних вод сброс минерализованных стоков, и опасность для здоровья людей потребления воды, содержащей ионы нитрата, заставили, например, правительство США утвердить новые стандарты качества воды. Питьевая вода не должна содержать более 10 мг нитрата на 1 литр.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

В последние десятилетия химическая промышленность производит все увеличивающиеся количества разнообразных синтетических органических веществ, используемых во все

большем масштабе в виде тканей, пластмасс, детергентов, инсектицидов, гербицидов и фунгицидов. Некоторые из них, как, например, синтетические ткани и пластмассы, почти не поддаются микробному воздействию; в природных условиях они постоянно накапливаются в виде неприглядного мусора. Широкое использование инсектицидов, гербицидов и фунгицидов неизбежно приводит к их распространению в природе. Среди них также встречаются соединения, весьма устойчивые к микробному разрушению. Показательные примеры подобных веществ, сохраняющихся в почве, приведены в табл. 25.2.

ТАБЛИЦА 25.2
УСТОЙЧИВОСТЬ ПЕСТИЦИДОВ В ПОЧВЕ

Обычное название	Химическая формула	Период сохранения
Инсектициды		
Эдрин	1,2,3,4,10,10-гексахлор-1,4,4а,5,8,8а-гексагидроэндо-1,4-эксз-5,8-диметано-нафталин	>9 лет
Хлорден	1,2,4,5,6,7,8,8а-октахлор-2,3,3а,4,7,7а-гексагидро-4,7-метанонинден	>12 лет
ДДТ	2,2-бис(<i>p</i> -хлорфенил)-1,1,1-трихлорэтан	10 лет
ГХГ	1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан	>11 лет
Гербициды		
Монурон	3-(<i>p</i> -хлорфенил)-1,1-диметилмочевина	3 года
Симазин	2-хлор-4,6-бис(этиламино)-симм-триазин	2 года
Фунгициды		
ПХФ	Пентахлорфенол	>5 лет
Цинеб	Этилен-1,2-бис-дитиокарбамат цинка	>75 дней

В анаэробных условиях, например в таких, которые создаются на дне озер, они могут сохраняться в течение еще более длительного времени.

Многие из этих соединений, предназначенные ограничивать развитие одних организмов, токсичны также и для других форм жизни; поэтому долгосрочные экологические последствия распространения этих соединений трудно (а может быть, и невозможно) предсказать, хотя уже сейчас совершенно ясно, что их накопление в природе представляет весьма реальную угрозу для многих видов.

Теперь признано желательным, чтобы любое синтетическое органическое соединение, широко распространяемое в природной среде, было чувствительным к микробному воздействию. В 50-е годы нашего века алкилбензолсульфонаты

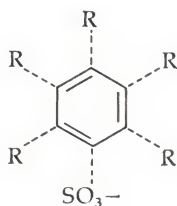


Рис. 25.5. Обобщенная структура алкилбензол-сульфонатов. Алкильная группа R (разветвленная или линейная) может занимать любое из положений, указанных пунктирными линиями.

(рис. 25.5) стали основными составными частями используемых в быту детергентов. Боковые цепи (R) этих соединений представляют собой разветвленные алифатические радикалы, придающие всей молекуле в целом заметную устойчивость к микробному воздействию. Благодаря этому они проходили через установки для очистки сточных вод в основном неизмененными и в дальнейшем загрязняли хранилища питьевой воды, вызывая ее вспенивание. В начале 60-х годов процесс производства детергентов был изменен таким образом, чтобы можно было синтезировать бензолсульфонаты с линейными алифатическими боковыми цепями (линейные алкилбензолсульфонаты); поскольку эти соединения высокочувствительны к разрушению под действием микробов, проблема была в значительной мере решена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Alexander M., 1971, *Microbial Ecology*, New York, Wiley.
 Bernal J. D., 1967, *The Origin of Life*, New York, World.
 Brock T. D., 1966, *Principles of Microbial Ecology*, Englewood Cliffs, N. J., Prentice-Hall.
 Starr M. P. (editor), 1964, *Global Impacts of Applied Microbiology*, New York, Wiley.
 Wood E. J. F., 1967, *Microbiology of Oceans and Estuaries*, Amsterdam, Elsevier.

Обзоры

- Alexander M. (1965), Biodegradation Problems of Molecular Recalcitrance and Microbial Fallibility, *Adv. Appl. Microbiol.*, **7**, 35.
 Gledhill W. E. (1974), Linear Alkylbenzene Sulfonates: Biodegradation and Aquatic Interactions, *Adv. Appl. Microbiol.*, **17**, 265.
 Horowitz N. H., Hubbard J. S. (1974), The Origin of Life, *Ann. Rev. Genetics*, **8**, 393.
 Kellogg W. W., Cadie R. D., Allen E. R., Lazrus A. L., Martell E. A. (1972), The Sulfur Cycle, *Science*, **175**, 587.
 Porges N. (1960), Newer Aspects of Water Waste Treatment, *Adv. Appl. Microbiol.*, **2**, 1.
 Postgate J. R. (1974), New Advances and Future Potential in Biological Nitrogen Fixation, *J. Appl. Bact.*, **37**, 185.
 Wuhrmann K. (1964), Microbial Aspects of Water Pollution Control, *Adv. Appl. Microbiol.*, **6**, 119.

Каждая группа организмов в процессе эволюции должна была приспособиться не только к неживой среде, но и к другим окружающим ее организмам. Адаптация к природным условиям иногда заключается в том, что организм приобретает особые метаболические качества, наделяющие их обладателя способностью занимать специфическую физико-химическую нишу. Например, нитрифицирующие бактерии могут расти в среде, полностью лишенной органических веществ, в присутствии аммиака или нитрита, используемого в качестве окисляемого источника энергии; в отсутствие света ни один другой живой организм не способен развиваться в таких специфических условиях. Поэтому нитрифицирующие бактерии не испытывают биологической конкуренции. Изоляция в особой физико-химической нише — это один из нескольких и притом высокоэффективных способов, которые помогают выдерживать биологическую конкуренцию. Однако значительная часть микроорганизмов по-иному участвует в этой конкурентной борьбе, *адаптируясь к существованию в тесной длительной ассоциации с другой формой жизни*. Такое биологическое явление называют *симбиозом*.

ТИПЫ СИМБИОЗА

Симбиотические ассоциации, которые микроорганизмы образуют с растениями и животными, а также с другими микроорганизмами, широко варьируют по степени их взаимной близости. Исходя из этого, все типы симбиоза можно приблизительно разделить на две категории: *эктосимбиоз* и *эндосимбиоз*. При *эктосимбиозе* микроорганизм сохраняет внешнее положение по отношению к клеткам своего хозяина¹, тогда как при *эндосимбиозе* микроорганизм развивается внутри клеток хозяина. Вместе с тем различие не всегда бывает таким резким: например, в лишайниках грибной компонент образует выросты, проникающие через клеточную стенку, но не через клеточную мембрану его партнера водоросли (рис. 27.13).

Разные типы симбиоза различаются также по относительной выгоде, получаемой каждым из партнеров. При *мутуалистическом (взаимовыгодном) симбиозе* оба партнера выигрывают от ассоциации; при *паразитическом симбиозе* выгоду извлекает лишь один из партнеров, тогда как второй

не выигрывает ничего, а часто даже получает более или менее тяжелое повреждение. Иногда трудно определить, является ли данный симбиоз мутуалистическим или паразитическим. Степень пользы или вреда, получаемого каждым из партнеров, можно оценить, лишь сравнив состояние двух партнеров при независимом существовании с их состоянием при жизни в ассоциации. Кроме того, природа симбиоза может изменяться при смене условий окружающей среды, так что взаимоотношения, начавшиеся как взаимовыгодные, могут стать паразитическими, и наоборот.

Тот факт, что два организма эволюционировали в симбиозе, подразумевает получение по крайней мере одним из них некоторых преимуществ от такой взаимосвязи. Однако степень зависимости этого партнера от симбиоза сильно варьирует. На одном полюсе находятся микроорганизмы, населяющие *ризосферу* высших растений — область, включающую поверхность корней вместе с почвой, которая непосредственно окружает корневые волоски. Эти микроорганизмы успешно развиваются и в других участках почвы, но в ризосфере они достигают более высокой плотности клеток, так как извлекают пользу от близости к корневым волоскам. На другом полюсе расположены облигатные паразиты, которые совсем не поддаются культивированию вне своих хозяев.

Таким образом, различные типы симбиоза варьируют по степени близости симбионтов (эктосимбиоз и эндосимбиоз), уравниваемости пользы и вреда (мутуализм и паразитизм) и взаимозависимости партнеров (факультативный и облигатный типы симбиоза).

МУТУАЛИСТИЧЕСКИЙ СИМБИОЗ

В последующих двух главах мы опишем различные типы симбиоза, при которых микроорганизмы вступают во взаимовыгодные ассоциации с другими микроорганизмами, растениями и животными. В этой главе мы ограничим обсуждение несколькими примерами, иллюстрирующими разные типы взаимоотношений, которые правильно было бы рассматривать как взаимовыгодные.

При взаимовыгодном эндосимбиозе микробные симбионты живут внутри клеток своих хозяев. Во многих таких ассоциациях микроорганизмы переходят к постоянному внутриклеточному существованию и передаются от одной генерации хозяина к другой через цитоплазму яйца. В других ассоциациях микроорганизм сохраняется внутри клеток хозяина только в течение определенного промежутка жизненного цикла последнего; на одной из стадий он высвобождается из клетки в окружающую среду, а затем инфицирует следующую генерацию клеток хозяина.

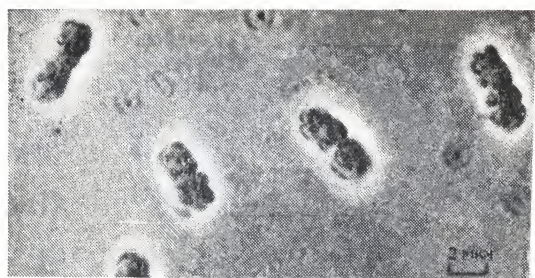


Рис. 26.1. Эктосимбиоз зеленых бактерий с большей по размеру бесцветной бактерией (так называемая ассоциация «*Chlorochromatium*»). Каждый объект представляет собой палочковидную бесцветную бактерию, покрытую регулярно расположенными мелкими клетками *Chlorobium* (фазовый контраст, $\times 2190$). (Фото предоставлено Н. Пфеннингом.)

Мутуалистический эктосимбиоз можно разделить на два основных типа ассоциаций. Во-первых, существует такой тип ассоциаций, при котором микробный симбионт живет на внешней поверхности своего хозяина. Например, некоторые фотосинтезирующие бактерии прикрепляются к поверхности других, нефотосинтезирующих бактерий (рис. 26.1), а определенные виды жгутиковых простейших, населяющие кишечник термитов, несут на своей поверхности своего рода мантию из спирохет (рис. 26.2).

Во-вторых, многие микробные симбионты обитают в полостях тела своих хозяев. Эти ассоциации рассматриваются как эктосимбиоз, потому что полости тела, хотя и являются внутренними по отношению ко всему организму, остаются внешними по отношению к тканям и составляют единое целое с внешней поверхностью тела хозяина. Наиболее обычными примерами таких ассоциаций служат микроорганизмы, населяющие пищеварительный тракт млекопитающих; к той же категории принадлежат светящиеся бактерии, которые живут в светящихся органах некоторых рыб и моллюсков (рис. 26.7 и 26.8).

Из всех типов эктосимбиоза наиболее удивительным является культивирование грибов некоторыми насекомыми, особенно высшими термитами, *Termes*, а также «амброзиевыми жуками», или короедами-древесинниками. В гнездах термитов существуют особые камеры с «грибными плантациями», на которых пасутся молодые нимфы и личинки. Короеды-древесинники выработали сложные способы инфицирования своих ходов грибными спорами (рис. 26.3), так что эти ходы оказываются выстланными мицелием, которым питаются жуки. Такие действия весьма близки к культивированию человеком пищевых растений, и все эти виды деятельности являются в сущности симбиотическими.

Представление о симбионте, в буквальном смысле пожирающем своего партнера, на первый взгляд, казалось бы, противоречит концепции симбиоза как «существования в не-

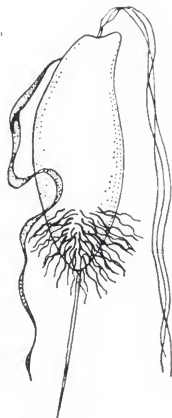


Рис. 26.2. Спирохеты, прикрепленные к заднему концу жгутиконосца *Glyptotermes* из кишечника термитов. [Kirby H., Jr., Univ. Calif. Publ. Zool., 45, 247 (1945).]

прерывной тесной ассоциации». Однако, когда один из партнеров — микроорганизм, мы имеем дело с *популяцией*, а не с индивидуумом. Поэтому грибы на возделываемой термитами грибной плантации извлекают пользу как популяция, хотя в каждый данный момент часть этой популяции поедается. При таких типах эктосимбиоза, а также при всех типах эндосимбиоза взаимоотношения симбионтов представляют собой *обоюдную эксплуатацию*, т. е. установление динамического равновесия между агрессивной и защитной деятельностью обоих участников. Например, в результате эндосимбиоза клубеньковые бактерии, обитающие в корневых клубеньках, инфицируют корень растения и эксплуатируют его, тогда как растение переваривает в конечном счете большую часть (но не всех) бактерий. Общим итогом является внешне мирный взаимовыгодный симбиоз.

ПАРАЗИТИЧЕСКИЙ СИМБИОЗ

Мы определили паразитический симбиоз как такой симбиоз, при котором один из партнеров не только не выигрывает от ассоциации, но может еще и получить более или менее серьезное повреждение. В случае симбиоза микроорганизмов с растениями и животными обычно довольно легко можно продемонстрировать преимущества, выпадающие на долю микроорганизма, но вместе с тем часто бывает трудно или даже невозможно оценить влияние микроорганизма на хозяина. *Инфекционная болезнь*, при которой хозяин постепенно ослабевает и может в конечном счете умереть, представляет собой, очевидно, паразитический симбиоз. Однако если отсутствует явное повреждение хозяина, то трудно сказать, является ли такое взаимоотношение паразитическим или взаимовыгодным. Например, «нормальную флору» желудочно-кишечного тракта млекопитающих длительное время считали паразитической, полагая, что только микроорганизмы выигра-

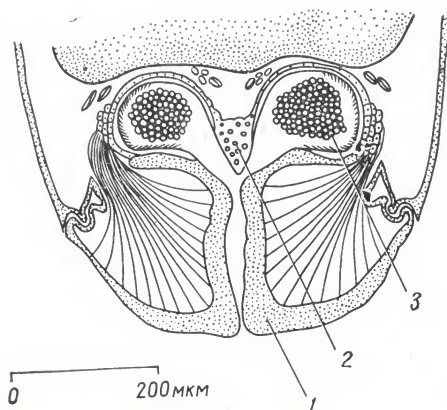


Рис. 26.3. Срез головки жука-древесинника *Xyleborus monographus*. Видны особые кармашки для хранения грибных спор. 1 — мандибула; 2 — железистые клетки; 3 — грибные споры. (По Шедл.)

вают от этой ассоциации. Тем не менее исследование *безмикробных животных* открыло ряд тонких, но важных преимуществ, которые кишечная флора сообщает своему хозяину (см. стр. 362).

ПАЗАРИТИЗМ КАК АСПЕКТ ЭКОЛОГИИ

Основной проблемой экологии является обнаружение факторов, которые в конечном счете определяют выживание вида. За исключением репродуктивного потенциала вида, т. е. числа жизнеспособных потомков, приходящихся на одного родителя в единицу времени, все факторы, влияющие на выживание, попадают в одну из двух категорий: факторы, от которых зависит доступность пищи, и факторы, влияющие на скорость разрушения индивидуума. Не считая человека, который изобрел самые необычные способы собственного уничтожения, для всех остальных видов существует лишь ограниченное число возможных причин гибели индивидуума. Животные, кроме немногих домашних, редко умирают от старости или от несчастных случаев. Большинство из них становятся жертвами либо природных хищников, либо патогенных паразитов. Однако между хищниками и патогенными паразитами нельзя провести достаточно четкого разграничения, поскольку обе категории удовлетворяют свои пищевые потребности за счет жертвы. В конечном счете принципиальное различие между ними заключается в том, что жертва хищника погибает немедленно, тогда как жертва патогенного паразита остается живой в течение более длительного времени.

Так как быть убитыми хищником или паразитом — нормальная участь большинства индивидуумов, каждый вид составляет определенное звено в биологической *цепи питания*. Микробные клетки, например, служат пищей для многих видов планктона, мельчайших растений и животных, кото-

рыми изобилуют воды океана. Планктон является основным источником пищи для многих морских беспозвоночных и рыб, а они в свою очередь поедаются более крупными рыбами и некоторыми морскими млекопитающими. Наиболее крупные животные, которые, казалось бы, представляют конечные звенья цепей питания, с течением времени умирают и используются в качестве пищи микроорганизмами. Таким образом, цепи питания фактически имеют циклическую природу.

Так как каждый организм составляет определенную часть цепи питания, это означает, что для любого гетеротрофа наилучшим источником питательных веществ является другой организм. Независимо от того, питается ли организм как хищник или как паразит, факторы, влияющие на доступность пищи для того или иного вида, многочисленны и сложны. Например, слишком большая популяция может исчерпать пищевые запасы до такой степени, что следующая генерация окажется в условиях острого дефицита пищи, в результате чего выживет значительно меньшее число особей. Кроме того, на количество запасов пищи могут влиять изменения климата, длительность геохимической эволюции, а также замена одних конкурирующих хищников или паразитов другими.

Способность вида противостоять поеданию другими видами зависит не только от его собственных защитных механизмов (т. е. защитной окраски, наличия панциря, способности летать или прятаться в норе, невосприимчивости к болезни), но и от тех свойств, которыми обладают паразиты или хищники. Так, в данном ареале может появиться новый хищник или паразит, а ранее существовавший может усвоить более эффективный способ питания.

Таким образом, живой мир организован в виде большого числа пересекающихся цепей питания. Каждая цепь состоит из ряда видов, популяции которых достигают равновесия в отношении скорости воспроизведения и гибели. Равновесная величина популяции может внезапно измениться, если изменится одна из ее сложных детерминант. В настоящее время наиболее существенными факторами, влияющими на это экологическое равновесие, являются разные виды деятельности человека. Путем строительства плотин, вырубания лесов, загрязнения рек, охоты, распыления ядохимикатов и переноса паразитов он истребил целый ряд видов и изменил экологию многих других.

ФУНКЦИИ СИМБИОЗА

Симбионт частично или полностью замещает собой неживую среду, которую занимают свободноживущие организмы; среди бесчисленных типов симбиоза, возникших в процессе эво-

люции, можно найти примеры, которые показывают, что тот или иной симбионт может выполнять для своего партнера почти любую известную функцию среды. Для удобства мы будем рассматривать эти функции, разделив их на четыре категории: защита, предоставление благоприятного положения, обеспечение аппарата узнавания и питание.

Чтобы определить функции, выполняемые партнерами по симбиозу, необходимо во всех случаях, кроме самых очевидных, разделить их между собой и изучить потребности каждого из них в отдельности. Зачастую этого нельзя достигнуть либо потому, что симбионтов невозможно отделить друг от друга, не повредив их, либо потому, что разделенные партнеры не поддаются культивированию. Такие симбионты, которых не удается культивировать в изолированном виде, называют *облигатными симбионтами*. Причисление того или иного симбионта к категории «облигатных» всегда является произвольным, поскольку никогда нельзя исключить возможности того, что идентификация функции, выполняемой его партнером, позволит со временем осуществить его индивидуальное выращивание.

ЗАЩИТА

Эндосимбионты, а также те эктосимбионты, которые живут в полостях тела животных, защищены от неблагоприятных условий среды. Эти места обитания предохраняют симбионтов от высыхания, а в случае теплокровных животных — от экстремальных температур.

Микробные симбионты растений и животных выполняют также функции защиты своих хозяев. Наиболее показательным примером является нормальная флора позвоночных, предохраняющая животных от внедрения патогенных (болезнетворных) микроорганизмов; как будет показано в гл. 28, безмикробные животные значительно чувствительнее к инфекции, чем их нормальные аналоги. Еще одна функция, которую многие микробы выполняют для своих симбиотических партнеров, — это удаление токсичных веществ; например, бактерии, обитающие в органах выделения некоторых насекомых, разлагают мочевую кислоту и мочевину до аммиака, который ассимилируется самими бактериями.

ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ БЛАГОПРИЯТНОГО ПОЛОЖЕНИЯ

Симбиотическая ассоциация может обеспечивать одному из партнеров положение, благоприятное в отношении снабжения питательными веществами. Так, многих из морских инфузорий находят только на поверхности тела ракообразных, где потоки веществ, создаваемые в результате дыхания и питания хозяина, обеспечивают микроорганизму постоянное

Рис. 26.4. Инфузория *Ellobiophyra donacis*, прикрепленная к жабрам двустворчатого моллюска *Donax vittatus* напо-

добие «висячего замка». 1. *Ellobiophyra* в процессе размножения почкованием. [Chatton E., Lwoff A., *Ellobiophyra donacis*

Ch. et Lw., peritriche vivant sur les branchies de l'acephale *Donax vittatus* da Costa, Bull. Biol. Belg., 63, 321 (1929).]

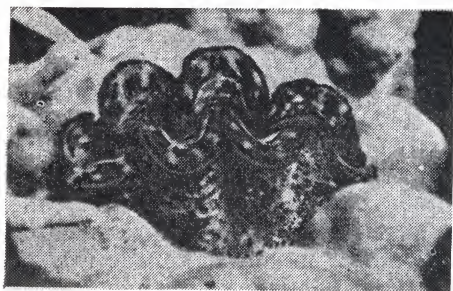


Рис. 26.5. *Tridacna maxima*, сфотографированная под водой. Видно характерное положение мантии на солнечном свете. [Fankboner P. V., Intracellular digestion of symbiotic zooxanthellae by host amoebocytes in giant clams (*Bivalvia: Tridacnidae*) with a note on the nutritional role of the hypertrophied siphonal epidermis. Biol. Bull., 141, 222 (1971).]

снабжение пищей (рис. 26.4). Не менее показательным примером является благоприятное положение, предоставляемое многими морскими беспозвоночными своим симбионтам — фотосинтезирующим водорослям. Некоторые из этих хозяев обладают фототаксисом и переносят своего фотосинтезирующего партнера по направлению к свету. У других беспозвоночных, таких, как тридакны (двустворчатые моллюски), водоросли-симбионты находятся в особых органах, действующих как собирающие линзы.

Тридакны (сем. Tridacnidae) обладают несколькими необычными анатомическими особенностями, из которых наиболее существенными являются расположение и толщина мантии — эпителиальной ткани, подстилающей раковину. В отличие от мантии всех других моллюсков мантия у Tridacnidae значительно расширена вдоль открытой (дорсальной) части раковины, а все внутренние органы смещены ближе к вентральному положению. Мантия, имеющая оливково-зеленый цвет из-за плотной популяции находящихся в ней водорослей-симбионтов, настолько толстая, что это препятствует закрыванию раковины. Ее поверхность покрыта коническими выступами (рис. 26.5).

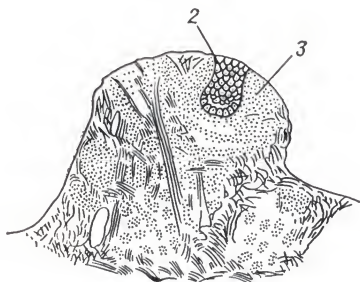
Срезы ткани мантии обнаруживают природу и функцию ее конических выступов. У каждого выступа имеется одна или несколько линзоподобных структур, *гиалиновых органов*, состоящих из прозрачных клеток. Каждый гиалиновый орган окружен плотной массой водорослей (рис. 26.6). Функция гиалинового органа состоит в том, что он обеспечивает проникновение света в глубину скопления водорослей.



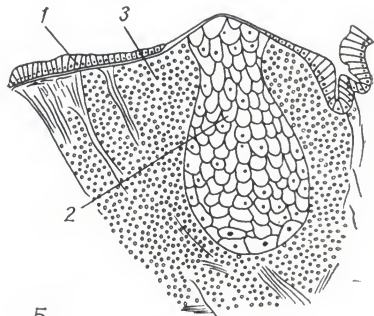
Рис. 26.6. Эндосимбиотические водоросли моллюска *Tridacna crossa*. (По М. Ионгу.) А. Срез

выступа на внутренней складке дорзального края мантии. Б. Увеличенное изображение ги-

алинового органа. 1 — эпителий; 2 — гиалиновый орган; 3 — зооксантеллы.



А



Б

Таким образом, тридакновые моллюски выработали высокоспециализированную систему для культивирования водорослей внутри своих собственных тканей. Водоросли развиваются во внеклеточных заполненных кровью каналах, которые расположены перпендикулярно освещаемой поверхности мантии. Старые и мертвые клетки водорослей в конечном счете перевариваются фагоцитными клетками хозяина.

Существует большое число анатомических данных, позволяющих предположить, что тридакны в значительной степени зависят от собственных водорослей как от основного источника пищи. Их пищеварительная система недоразвита, а фагоцитирующие клетки изменены таким образом, что в них могут проникать только самые мелкие частицы. Наконец, почки сильно увеличены в размере, вероятно, для регуляции выделения продуктов, образованных фагоцитами при переваривании водорослей. Таким образом, моллюски (сем. Tridacnidae) представляют собой пример крайней степени зависимости от симбиоза, выработанной в процессе эволюции.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ АППАРАТА УЗНАВАНИЯ

Биолюминесценция является широко распространенным явлением среди животных. Она встречается в таких разных группах, как медузы, земляные черви, светляки, кальмары и рыбы. Излучение света этими животными весьма часто служит, по-видимому, своего рода приспособлением для распознавания, способствуя их собиранию в стаю, спариванию или привлечению добычи. В большинстве случаев люминесценция возникает в тканях самого животного, но у определенных видов кальмаров и некоторых рыб ее осуществляют светящиеся бактерии, живущие как эктосимбионты в особых органах хозяина.

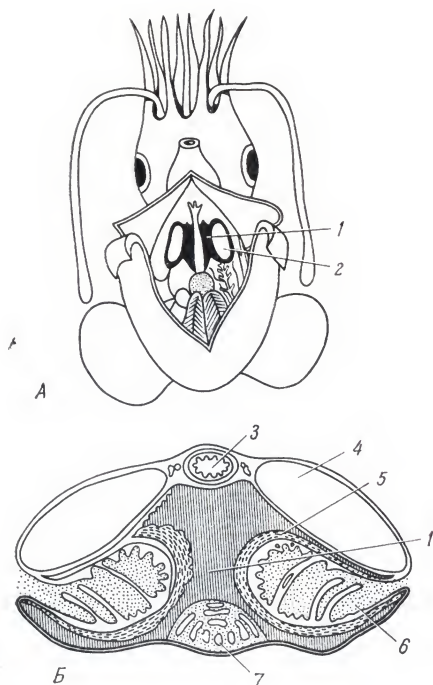


Рис. 26.7. Головоногий моллюск. [Kishitani T., Studien über Leuchtssymbiose von japanischen Sepien, Folia Anat. Japan., 10, 315 (1932).] А. Самец с открытой мантией, позволяющей видеть светящиеся органы, погруженные в чернильный мешок. Б. Поперечный срез светящихся органов. Видны рефлекторы, линзы и открытые камеры, содержащие светящихся бактерий. 1 — чернильный мешок; 2 — светящийся орган; 3 — прямая кишка; 4 — линзы; 5 — рефлектор; 6 — светящиеся бактерии; 7 — чернильная железа.

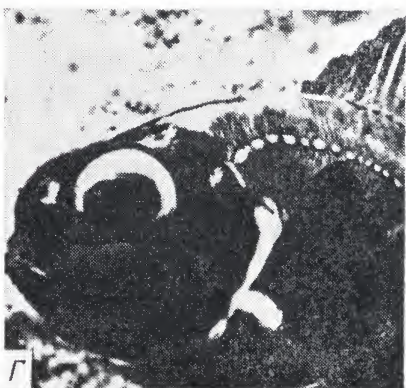
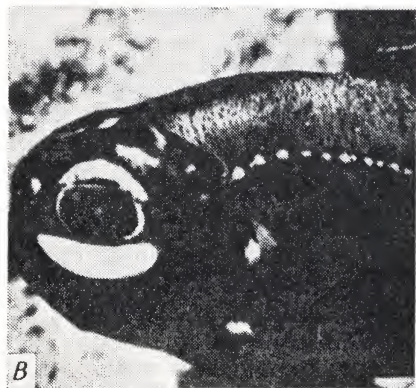
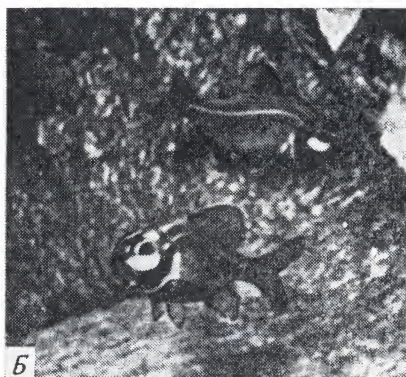
Светящиеся бактерии идентифицированы у многих видов кальмаров (моллюсков, принадлежащих к классу Cephalopoda), относящихся к подотряду Myopsida. Миопсидовые кальмары, называемые также каракатицами, отличаются своей сильно кальцифицированной раковиной. На рис. 26.7 показан самец рода *Euprymna*, органы свечения (фотофоры) которого вполне типичны для каракатиц. Эти железистые органы погружены в чернильный мешок и частично окружены слоем отражающей свет ткани; непосредственно под железами расположены линзы, состоящие из гиалиновых клеток, пропускающих свет. Некоторые кальмары могут регулировать излучение света путем сокращения мышц, в результате чего чернильный мешок сжимается и выталкивается в пространство между источником света и линзами. На рис. 26.7 видно, что органы свечения открыты наружу; все данные свидетельствуют о том, что молодые животные инфицируются бактериями, проникающими в них из внешней среды, а не посредством внутриклеточной передачи через яйцо.

Большое число различных видов рыб также обладает органами свечения, состоящими из открытых наружу желез, в которых находятся светящиеся бактерии. У нескольких видов этот орган снабжен отражающим свет слоем ткани. На-

Рис. 26.8. Рыба *Photoblepharon palpebratus*, сфотографированная ночью среди рифов залива Эйлат в Израиле. [Morin J. et al., Light for all reasons: versatility in the behavioral repertoire of the flashlight fish. Science, 190, 74—75 (1975).]

А. *Photoblepharon* ночью на рифе, сфотографированный в свете, излучаемом его собственным светящимся органом. Б. Пара *Photoblepharon* на их межприливной территории. В. *Photoblepharon* с открытым веком светящегося органа, показан-

ный крупным планом. Г. Та же рыба с закрытым веком. Фотографии Б, В и Г сделаны с помощью подводного импульсного освещения. Отражающие области боковой линии, края плавниковых лучей и жаберной крышки не светятся.



ибо более сложные органы найдены у двух близкородственных родов *Photoblepharon* и *Anomalops*; в обоих случаях светящиеся бактерии обитают в специальных мешочках под глазами (рис. 26.8). Особенно удивительным свойством этих форм является их способность регулировать излучение света; у *Photoblepharon* это достигается тем, что мешочек закрывается складкой черной ткани, действующей подобно главному веку; у *Anomalops* сам фотофор может поворачиваться вниз, скрываясь в кармашке из черной ткани.

Сложное устройство этих органов, предназначенных для регулирования симбиотического излучения света, подчеркивает большое приспособительное значение люминесценции для хозяина, так как считается, что в большинстве случаев она служит своего рода опознавательным знаком. Функции хозяина, несомненно, заключаются в том, что он обеспечивает светящихся бактерий питательными веществами и защитой.

ПИТАНИЕ

Наиболее общей функцией симбионтов является обеспечение своих партнеров питательными веществами. Такое обеспечение может быть косвенным, как в случае грибов, инфицирующих корни растений и таким способом увеличивающих водопоглотительную способность корневой системы. Однако обычно снабжение пищей является прямым, и симбионт обеспечивает партнера одним или несколькими необходимыми питательными веществами.

Наиболее ярким и широко изученным примером служит *фиксация азота*. Как уже указывалось (гл. 25), способность фиксировать азот присуща исключительно прокариотам, но многие группы эукариот, как растений, так и животных, вступили в симбиотические ассоциации с азотфиксирующими бактериями. В гл. 27 будет детально рассмотрена фиксация азота клубеньковыми бактериями.

Целлюлоза как главный компонент растений представляет собой основной источник углерода и энергии для травоядных животных и насекомых, питающихся древесиной. Некоторые из этих животных неспособны к перевариванию целлюлозы; у жвачных животных и по крайней мере у одной группы насекомых — термитов и питающихся древесиной тараканов — переваривание целлюлозы осуществляется симбиотическими бактериями и простейшими. Кроме того, и другие сложные углеводы часто перевариваются микробными симбионтами, живущими в пищеварительных трактах животных.

Открытие и объяснение эндосимбиоза между микроорганизмами и насекомыми-хозяевами являются одной из наиболее увлекательных детективных историй в биологии. В 1888 г. Блохман (F. Blochman) установил, что некоторые особые клетки тараканов содержат симбиотические бактерии, а вскоре энтомологи открыли эндосимбиотические бактерии, грибы и простейшие у множества других насекомых.

Значение этих типов симбиоза стало ясным, когда были разработаны способы освобождения насекомых от их симбионтов; оказалось, что для своего нормального развития такие животные нуждаются в одном или большем числе витаминов группы В. О важности симбионтов для благополучия их хозяев свидетельствуют сложные механизмы, вы-

работанные насекомыми для передачи симбионтов потомству. Эти механизмы рассматриваются ниже.

В гл. 27 мы опишем некоторые типы симбиоза между фотосинтезирующими и нефотосинтезирующими партнерами. Во многих подобных случаях метаболические функции обоих партнеров дополняют друг друга в отношении метаболизма углерода и кислорода; поэтому такие симбиотические ассоциации фактически осуществляют полный круговорот этих двух элементов в соответствии со схемой, представленной в гл. 25.

УСТАНОВЛЕНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ СИМБИОЗА

Как станет ясно из дальнейшего изложения, эволюция симбиоза обычно характеризуется все большей и большей взаимозависимостью двух партнеров. В свою очередь это содействует выработке механизмов, обеспечивающих непрерывность симбиоза между генерациями. Существуют два вида таких механизмов: механизмы, с помощью которых хозяин непосредственно передает симбионтов своему потомству в каждой генерации, и механизмы, посредством которых каждая новая генерация инфицируется заново.

ПРЯМАЯ ПЕРЕДАЧА

Наиболее простой тип прямой передачи симбионтов представляет собой эндосимбиоз простейших с водорослями. Простейшее и его внутриклеточный симбионт, водоросль, делятся с более или менее одинаковой скоростью, так что каждая дочерняя клетка хозяина получает пропорциональную долю клеток водорослей. В некоторых случаях деление клеток точно регулируется: клетка хозяина, содержащая две клетки водоросли, делится с образованием двух дочерних клеток, каждая из которых получает по одному симбионту. Затем делится симбионт, и снова их число на клетку достигает двух (рис. 27.11).

У животных, размножающихся половым путем, прямая передача симбионтов может осуществляться в результате инфицирования цитоплазмы яйца. Иногда это требует от клетки-хозяина чрезвычайно сложной последовательности движений, морфологических изменений и взаимодействий. Например, у некоторых насекомых микробные симбионты содержатся внутри специализированных клеток *мицетоцитов*, из которых состоят органы, называемые *мицетомами*. Механизм переноса симбионтов из мицетома в яйцо различается у разных семейств и может быть очень сложным. Обычно существует такая последовательность событий: симбионты освобождаются из мицетомов и, будучи во всех случаях неподвижными, пассивно переносятся в яичник по лимфати-

ческому пути. В яичнике симбионты поглощаются особыми эпителиальными клетками, а из них в конечном счете попадают в яйцеклетки.

В других случаях зародышевые клетки инфицируются на ранней стадии эмбрионального развития насекомого. Если насекомое развивается в самца, зародышевые клетки превращаются в семенники и симбионты разрушаются. Однако, если насекомое развивается в самку, зародышевые клетки превращаются в яичник, а симбионты начинают размножаться, так что в каждом яйце оказывается большое число их клеток.

Цикл завершается во время эмбриогенеза потомства, когда происходят события, которые приводят к образованию наполненного симбионтами мицетома. Способ образования мицетомов меняется от семейства к семейству, будучи особенно сложным у насекомых, содержащих несколько различных симбионтов, каждый из которых должен в конечном счете попасть в свой собственный особого типа мицетоцит или мицетом. Развитие мицетома во всех случаях представляет собой процесс дифференцировки, сравнимый с аналогичным процессом, приводящим к образованию любого другого органа животного. Дифференцировка инициируется серией упорядоченных делений ядра в той области яйца, которая содержит скопление симбионтов, и завершается образованием мицетома взрослого насекомого.

ПОВТОРНОЕ ИНФИЦИРОВАНИЕ

Среди насекомых мы вновь находим наилучшие примеры механизмов, предназначенных для того, чтобы организм матери мог обеспечить инфицирование потомства симбионтами. Каждая группа насекомых выработала свой собственный набор специализированных приспособлений: у некоторых насекомых прямое анатомическое соединение кишечника и влагалища гарантирует обильное загрязнение поверхности яиц кишечными симбионтами во время их прохождения через яйцеклад. Когда выводятся личинки, они сразу же инфицируют себя путем поедания части или всей оболочки яйца.

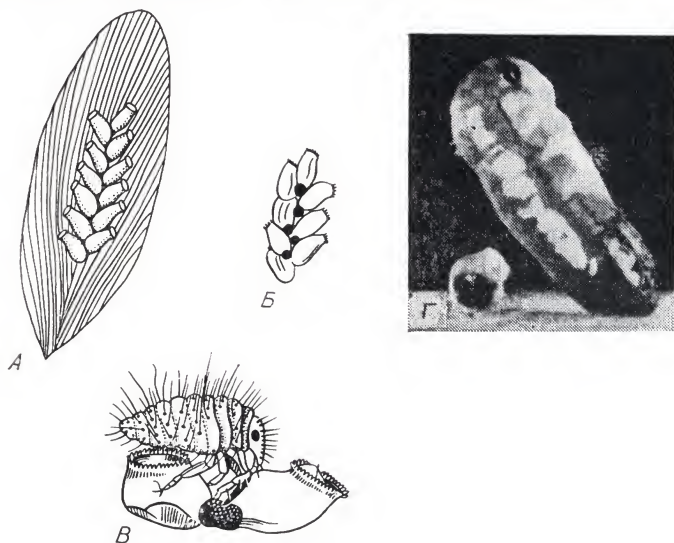
Существуют две группы живородящих мух: *Glossina* (муха цеце) и большая группа, называемая *Pupipara*, представители которой сами являются эктосимбионтами млекопитающих и птиц. Личинки этих мух развиваются в матке, питаясь выделениями хорошо выраженных придаточных желез («молочных желез»). В этих же железах находятся симбиотические микроорганизмы, которые попадают в личинки в процессе их питания.

Особенно интересны два описанных механизма передачи симбионтов, так как в их основе лежит генетически детерминированная стереотипная форма поведения только что вы-

Рис. 26.9. *Coptosoma scutellatum*. (По Х. Мюллеру.). А. Яйца, отложенные на лист вики. Б. Вид яиц снизу; видны напол-

ненные симбионтами коконы, расположенные между каждой парой яиц. В. Только что вылупившаяся личинка,

высасывающая суспензию симбионтов из кокона. Г. Увеличенное изображение яйца и кокона.



лулившихся личинок. В одном случае вылупившаяся из яйца личинка всасывает каплю бактериальной суспензии, которая выделяется из ануса самки в период ухода за яйцами. В другом случае самка насекомого *Coptosoma*, питающегося соками растений, откладывает заполненный бактериями «кокон», или капсулу, между каждой парой яиц. При выходе из яйца каждая личинка опускает свой хоботок в кокон и всасывает определенную порцию симбионтов (рис. 26.9).

Такие же сложные механизмы выработаны в царстве растений для инициации образования корневых клубеньков при инфицировании бактериями рода *Rhizobium* своего хозяина — бобового растения. Корни растения выделяют ряд веществ, среди которых имеется триптофан. Бактериальные клетки в почве превращают триптофан в растительный гормон роста индолилуксусную кислоту, а также образуют внеклеточный полисахаридный капсульный материал, индуцирующий у корней растений выделение фермента полигалактуроназы. Затем бактерии начинают проникать в те корневые волоски, у которых индолилуксусная кислота индуцирует аномальный рост; возможно, что в осуществлении такого проникновения определенную роль играет полигалактуроназа. Более подробно процесс образования клубеньков будет рассмотрен в гл. 27.

В общем чем больше взаимозависимость симбиотических партнеров, тем больше оснований предполагать, что в про-

цессе эволюции были выработаны средства, обеспечивающие непрерывность их ассоциации. Напротив, образование слабых ассоциаций часто зависит, по-видимому, исключительно от случайности, и оба партнера могут существовать также в свободном состоянии.

ЭВОЛЮЦИЯ СИМБИОЗА

Естественный отбор влияет на симбиотические ассоциации так же, как и на индивидуальные организмы. Таким образом, симбиоз имеет свою собственную филогению. При отсутствии ископаемых остатков такая филогения неизбежно является спекулятивной, тем не менее на основании природы современных типов симбиоза можно сделать определенные выводы о некоторых ее тенденциях.

Представляется неизбежным эволюционирование симбиоза в направлении формирования более тесной связи между организмами, входящими в ассоциацию. Из слабой ассоциации, при которой один или оба организма находят оптимальные условия вблизи другого, постепенно может возникнуть эктосимбиоз. На более поздней стадии его эволюции взаимосвязь организмов может стать эндосимбиотической, если меньший по размеру организм проникнет в ткани хозяина, а в конечном итоге и в его клетки.

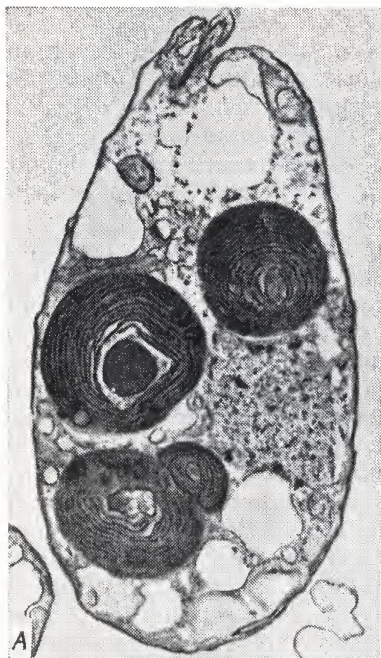
Как только симбиоз установился, отбор начинает действовать в направлении повышения его эффективности. Однако увеличение степени адаптации к одним высокоспециализированным условиям среды неизбежно означает снижение степени адаптации ко всем другим окружающим условиям. В результате появляется высокая степень специализации; симбионт не только теряет способность к свободному существованию, но и приобретает повышенную *специфичность* в отношении выбора партнера. В настоящее время мы находим множество подобных примеров, особенно в случае эндосимбиоза, когда ни один из партнеров не может развиваться в отсутствие другого.

Следует задать себе вопрос, можно ли провести разграничение между полностью взаимозависимой парой симбионтов, такой, как простейшее, содержащее внутриклеточный симбионт в виде водоросли, и эукариотической клеткой с заключенными в ней органеллами. Несколько лет назад такое разграничение можно было бы выразить в генетических терминах, поскольку сосуществование простейшего и водоросли зависит от двух разных геномов, тогда как все компоненты эукариотической клетки контролируются, как предполагалось ранее, одним геномом. Сейчас подобное разграничение уже нельзя провести, так как в настоящее время известно, что такие органеллы, как митохондрии и хлоропласты, содержат ДНК.

Рис. 26.10. А. Электронная микрофотография ультратонкого среза жгутикового простейшего *Cyanophora paradoxa*, содержащего несколько эндосимбиотических цианобактерий (×4370). (Фото предоставлено У. Холлом.) Б. Электронная микрофотография ультратонкого среза *Pseudogloeophloea confusa* — красной водоросли, содержащей несколько хлоропластов (темная структура в центре — поперечная перегородка многоклеточной нити; ×7200). (Фото предоставлено Дж. Рамусом.)

нобактерий (×4370). (Фото предоставлено У. Холлом.) Б. Электронная микрофотография ультратонкого среза *Pseudogloeophloea confusa* — красной водоросли, содержа-

щей несколько хлоропластов (темная структура в центре — поперечная перегородка многоклеточной нити; ×7200). (Фото предоставлено Дж. Рамусом.)



Действительно, вполне возможно (и это было уже отмечено в гл. 3), что эукариотическая клетка первоначально возникла как результат эндосимбиоза между двумя (или более) клетками примитивных типов. Например, существует много сходного между хлоропластами и эндосимбиотическими цианобактериями (рис. 26.10), а также между митохондриями и эндосимбиотическими дышащими бактериями.

Если клеточные органеллы, обладающие ДНК, рассматривать в рамках данного обсуждения как облигатных симбионтов, что же тогда можно сказать о *плазмидах*, которые были описаны в гл. 15? И в связи с этим, что такое *вирусы*, которые также ведут себя как внутриклеточные чужеродные генетические элементы? Все эти элементы можно было бы классифицировать как облигатных симбионтов, в обычных условиях являющихся паразитическими, но при некоторых обстоятельствах вступающих во взаимовыгодные ассоциации с клетками своих хозяев. Будем ли мы классифициро-

вать их таким способом, полностью зависит от нашего желания или нежелания ограничить определение симбиоза только взаимоотношениями между клетками (или подобными клеткам органеллами). Плазмиды и вирусы во внутриклеточном состоянии никогда не бывают клетками или подобными клеткам образованиями; они состоят из генетического материала, ДНК или РНК, и аналогичны прокариотической хромосоме. Хотя совершенно ясно, что в живых системах взаимозависимость между компонентами наблюдается на всех уровнях — молекулярном, субклеточном и клеточном, — все-таки более целесообразно ограничить понятие *симбиоза* *взаимозависимыми системами, в которых оба партнера способны, по крайней мере теоретически, к автономному существованию.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

Burnet F. M., White D. O. (1972), Natural History of Infectious Disease, 4th ed., New York, Cambridge University Press.

Cheng T. C., ed. (1971), Aspects of Biology of Symbiosis, Baltimore, University Park Press.

Henry S. M., ed. (1966, 1967), Symbiosis, Vols. I and II, New York, Academic Press.

Nutman P. S., Mosse B. (1963), Symbiotic Associations: 13th Symposium of the Society for General Microbiology, New York, Cambridge University Press.

Symbiosis: 29th Symposium of the Society for Experimental Biology. (1975), New York, Cambridge University Press.

Trager W. (1970), Symbiosis, New York, Van Nostrand Reinhold.

Обзорная статья

Preer J. R. (1971), Extrachromosomal Inheritance: Hereditary Symbionts, Mitochondria, Chloroplasts, Ann. Rev. Genetics, 5, 361.

27 СИМБИОТИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМИ И НЕФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМИ ПАРТНЕРАМИ

В значительном числе взаимовыгодных симбиозов один из партнеров представляет собой фотосинтезирующий организм. Нефотосинтезирующий партнер может выполнять самые разнообразные функции: в одних случаях, как, например, у азотфиксирующих клубеньковых бактерий, такой функцией является обеспечение пищей; в других случаях (примером могут служить грибные партнеры лишайников) — обеспечение защитой; кроме того, нефотосинтезирующий организм может создавать благоприятное положение своему партнеру, как это происходит у моллюска *Tridacna*, на котором поселяются водоросли.

В то же время вклад фотосинтезирующего партнера в ассоциацию всегда состоит в обеспечении симбионтов питательными веществами — углеводами и другими органическими соединениями, образующимися путем фиксации CO_2 . Перемещение углеводов от одного симбионта к другому было изучено путем проведения на свету ассимиляции CO_2 , меченной ^{14}C , и прослеживания во времени включения метки в метаболиты каждого из партнеров. В симбиотических ассоциациях водорослей с беспозвоночными животными, а также в ассоциациях водорослей с грибами (лишайники) изотопные исследования обнаружили ряд важных приспособлений, облегчающих *однаправленный транспорт углеводов* от фотосинтезирующего к нефотосинтезирующему партнеру. Например, симбиотические водоросли выделяют значительно большую долю фиксированного ими углерода, чем родственные свободноживущие водоросли; зачастую такое выделение прекращается вскоре после изолирования симбиотической водоросли, что указывает на специфическое стимулирующее действие нефотосинтезирующего партнера.

Выделяемые органические соединения обычно отличаются от основных внутриклеточных соединений водорослей: в большинстве случаев это такие вещества, которые может использовать нефотосинтезирующий партнер, но не сами водоросли. Например, зеленые водоросли лишайников выделяют многоатомные спирты, такие, как рибит, которые не метаболизируются самими водорослями, но быстро используются грибными партнерами (табл. 27.1). Это явление объясняет *однаправленный поток* выделяемого органического соединения: его утилизация нефотосинтезирующим партнером создает *градиент концентрации*, что приводит к постоянному перемещению этого соединения от водорослей к партнеру. Иногда выделяемое вещество могут метаболизировать

ТАБЛИЦА 27.1

ДВИЖЕНИЕ УГЛЕВОДОВ ОТ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕГО
К НЕФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕМУ СИМБИОНТУ¹

Фотосинтезирующий донор		Нефотосинтезирующий реципиент	
организм	выделяемый углевод	соединение, в которое непосредственно превращается выделяемый углевод	организм
<i>Zoochlorellae</i>	Мальтоза, глюкоза	→ Гликоген, пентозы	Морские беспозвоночные
<i>Zooxanthellae</i>	Глицерин	→ Липиды, белки	То же
Лишайниковые водоросли			
<i>Chlorophyceae</i>	Полнолы	→ Полнолы	Лишайниковые грибы
Цианобактерии	Глюкоза	→ Маннит	То же
Высшие растения	Сахароза	→ Трегалоза, гликоген, полнолы	Микоризные грибы

¹ Видоизмененная табл. 8 из работы Smith D., Muscatine L., Lewis D., Carbohydrate movement from autotrophs to heterotrophs in parasitic and mutualistic symbioses, Biol. Rev., 44, 17 (1969).

также и водоросли; в таких случаях однонаправленный поток поддерживается за счет быстрого превращения этого вещества в грибах в такую форму, которую используют лишь последние.

В *микоризах* (ассоциациях между грибами и корнями высших растений) также обнаружено движение углеводов от фотосинтезирующего к нефотосинтезирующему партнеру. Здесь транспортируемым субстратом, по-видимому, является сахароза, представляющая собой ту же форму, в которой углевод переносится внутри растения. Таким образом, его перемещение в направлении грибов представляет собой *ответвление транслокационного потока*; частично это может быть обусловлено быстрым превращением сахарозы в грибах в такие соединения, как трегалоза и многоатомные спирты, которые не метаболизируются растением. Однако возможно, что такое ответвление осуществляется с помощью растительных гормонов, многие из которых, как известно, образуются грибами.

СИМБИОЗ, В КОТОРОМ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМ ПАРТНЕРОМ ЯВЛЯЕТСЯ ВЫСШЕЕ РАСТЕНИЕ

Микроорганизмы обнаружены в ряде различных симбиотических ассоциаций с высшими растениями. В качестве эктосимбионтов они обитают на поверхности листьев (*филлосфе-*

ре), а также в почве, непосредственно окружающей корни растений (*ризосфере*). В качестве эндосимбионтов грибы внедряются в корни и образуют ассоциации, называемые *микоризами*, а некоторые бактерии, проникая в корни, образуют *азотфиксирующие клубеньки*.

РИЗОСФЕРА

Участки почвы, непосредственно окружающие корни растения, вместе с поверхностью корней составляют *ризосферу* растения. В функциональном смысле ее можно определить как область, лежащую в пределах нескольких миллиметров от поверхности каждого корня, в которой химическая активность растения влияет на микробную популяцию. Это влияние в основном проявляется в количественном отношении: число бактерий в ризосфере обычно превышает их число в окружающей почве в 10, а часто и в несколько сотен раз.

Наблюдаются также и качественные изменения. В ризосфере преобладают короткие граммотрицательные палочки, тогда как грамположительные палочковидные и кокковидные формы встречаются здесь реже, чем в остальной части почвы. Однако не установлено никаких специфических ассоциаций конкретных бактериальных видов с конкретным растением.

Причина относительного обилия бактерий в ризосфере, несомненно, кроется в том, что корни растений выделяют органические питательные вещества, которые избирательно стимулируют рост бактерий с определенными типами питания. Однако не установлено никаких четких трофических взаимосвязей, хотя многие органические продукты, выделяемые корнями растений, уже идентифицированы. Состояние наших знаний, касающихся влияния микробной популяции ризосферы на растение, еще менее удовлетворительно. Несмотря на многочисленные сообщения по этому вопросу, остается неясным, извлекает ли растение какую-либо пользу из ассоциации с микроорганизмами. Однако известно, что многие свободноживущие почвенные бактерии выполняют необходимые для растения функции, такие, как фиксация азота и минерализация органических соединений; поэтому логично предположить, что некоторые растения выигрывают от тесного контакта с микроорганизмами.

МИКОРИЗЫ

Корни большинства высших растений инфицированы грибами. При такой форме симбиоза, так же как и при многих других, создаются динамические условия взаимной эксплуатации, из которой оба партнера извлекают пользу до тех пор, пока сохраняется равновесие между атакующими и защитными силами симбионтов. В результате инфекции строение

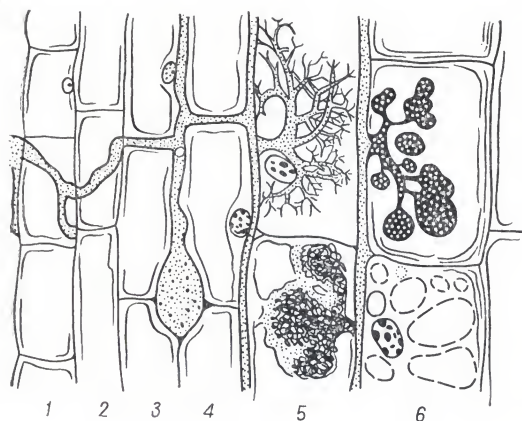


Рис. 27.1. Рисунок, изображающий проникновение микоризного гриба в корень *Allium*. В первых двух слоях клеток грибной мицелий занимает внутриклеточное положение. Между третьим и четвертым слоями, где он находится между клетками, виден везикулярный запасующий орган. В пятом и шестом слоях гриб образует внутриклеточные древовидные разветвленные структуры (арбускулы). В шестом слое арбускулы подвергаются перевариванию клетками хозяина. [Meyer F. H., Mycorrhiza and other plant symbiosis, in Symbiosis, Vol. I (Henry S. M., editor), New York, Academic Press, 1966.]

сложная структура, состоящая из корней высшего растения и гиф гриба, называется *микоризой*.

Образование микоризы начинается с того, что почвенный гриб оплетает своими гифами корень растения; рост гриба по направлению к корню стимулируется определенными органическими соединениями, которые растение выделяет в почву. Грибной мицелий проникает в клетки корня с помощью выростов, называемых *гаусториями*, после чего начинается его внутриклеточное развитие. В одних микоризах гриб образует разветвленные внутриклеточные структуры, называемые *арбускулами* (рис. 27.1), в других — характерные спирали.

В зависимости от хозяина гриб либо продолжает вести внутриклеточное существование, либо подвергается перевариванию. В последнем случае грибной мицелий сохраняется в основном в форме *межклеточных* гиф. Однако во всех микоризах значительная часть мицелия остается в почве, а межклеточные формы чаще всего образуют на корне компактный чехол.

За немногими исключениями, микоризы не являются видоспецифичными. Данный гриб может быть связан с любым из нескольких растений-хозяев, а данное растение в большинстве случаев может образовать микоризы с любым из целого ряда почвенных грибов. Например, было показано, что один из видов сосны вступает в ассоциацию с любым из 40 различных грибов. Огромное большинство свободноживущих почвенных грибов способно к образованию мико-

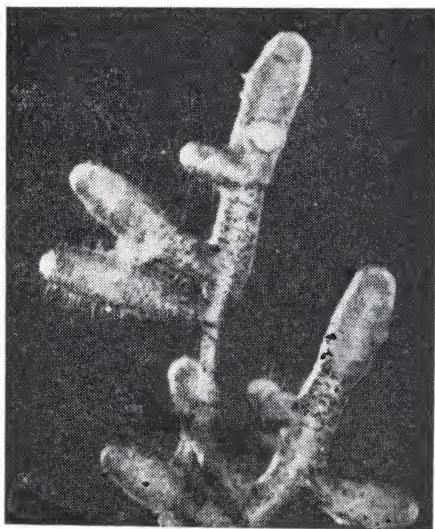


Рис. 27.2. Микориза *Fagus sylvatica*; видны булабовидные отростки корней и отходящие от их поверхности гифы. [Meyer F. N., Mycorrhiza and other plant symbioses, in Symbiosis, Vol. I (Henry S. M., editor), New York, Academic Press, 1966.]

риз. В экспериментах, проведенных с чистыми культурами свободноживущих грибов и стерильными корнями растений, было найдено, что свыше 70 видов грибов образуют микоризы. Несомненно, что в природе существует во много раз больше видов, способных к формированию микоризы.

Типичная микориза показана на рис. 27.2. Такая структура с укороченными булабовидными отростками возникает в результате различных воздействий гриба на корень. Эти воздействия приводят к увеличению объема клеток при подавлении роста корня в длину, а также к формированию боковых корней под действием ауксинов (гормонов роста растений), выделяемых грибами.

Во многих случаях можно легко продемонстрировать, что микориза представляет собой взаимовыгодную форму симбиоза. Характерной особенностью грибов, участвующих в образовании микоризы, является то, что они не способны использовать сложные полисахариды, которые служат основным источником углерода для микроорганизмов в лесных почвах и гумусе. Внедряясь в корни растений, такие грибы обеспечивают себя простыми углеводами, например глюкозой. Действительно, выделяемые грибами ауксины вызывают усиленный поток углеводов из листьев к корням растения-хозяина.

Растение также выигрывает от подобной ассоциации. Многие лесные деревья перестают расти и в конце концов погибают, если их лишить микоризы. Нормальное состояние таких деревьев можно восстановить путем внесения в почву подходящих микоризных грибов. По-видимому, грибы облегчают поглощение корнями воды и минеральных веществ

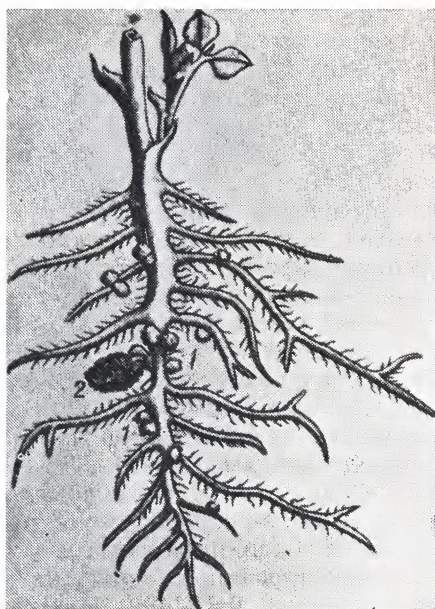


Рис. 27.3. Рисунок Мальпиги (XVII в.), изображающий корни бобового растения с корневыми клубеньками (1). Крупный темный объект (2) — оболочка семени, из которого развилось данное растение.

из почвы; грибные гифы увеличивают во много раз абсорбирующую поверхность растительной корневой системы. Функция микоризы как абсорбирующего органа была подтверждена при сравнении поглощения из почвы минеральных веществ растениями, одни из которых имели микоризу, а другие нет. Например, сосны поглощают в присутствии микоризы в два-три раза больше фосфора, азота и калия, чем в ее отсутствие.

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ И БОБОВЫЕ РАСТЕНИЯ

Уже давно известно, что плодородие сельскохозяйственных земель можно поддерживать путем «севооборота». Если определенный участок почвы из года в год засевать злаками, такими, как пшеница или ячмень, его продуктивность начинает снижаться. Однако ее можно восстановить, если прервать этот годовой цикл, посеяв на данном участке какое-либо бобовое растение, например клевер или люцерну. Еще римские авторы, писавшие о сельском хозяйстве, знали, что бобовые растения обладают способностью восстанавливать или поддерживать плодородие почвы — свойством, не обнаруженным у других растений. Было известно также, что на корнях бобовых растений имеются особые клубеньковые структуры (рис. 27.3). Анатомы растений XVII и XVIII вв., довольно детально изучившие эти клубеньки, рассматривали их как патологические структуры, аналогичные галлам, об-

разующимся на побегах некоторых растений в результате их повреждения насекомыми.

Примерно в середине XIX в. была предложена новая интерпретация природы корневых клубеньков. В это время развитие химических методов позволило ученым начать исследование проблем плодородия почвы и роста растений на химической основе. Одним из первых результатов этих исследований было выяснение роли бобовых растений в сохранении плодородия почвы. Было установлено, что рост большинства растений, кроме бобовых, ограничивается содержанием в почве связанного азота. Кроме того, анализ общего количества азота в почве показал, что после выращивания бобовых растений на бедной азотом почве в ней наблюдается общее увеличение содержания связанного азота. Так как единственным возможным источником такого избытка азота является атмосфера, из полученных результатов можно было сделать вывод, что в отличие от других высших растений бобовые могут фиксировать атмосферный азот. Следовательно, выращивание культуры бобовых на бедной азотом почве должно привести к увеличению в ней общего количества фиксированного азота, особенно если при этом запахать выращенные растения. В этом заключается химическая основа давно сложившейся практики севооборота.

Как только были установлены эти факты, возник естественный вопрос, имеется ли какая-либо связь между образованием необычных клубеньков на корнях бобовых растений и их способностью фиксировать азот. Иногда бобовые растения не образуют клубеньков, и исследования показали, что такие растения не способны фиксировать азот. При микроскопическом изучении содержимого клубеньков было обнаружено, что в них имеется большое количество «бактериондов» — мелких, палочковидных или разветвленных телец, по своим размерам и форме похожих на бактерии (рис. 27.4). Эти данные привели к предположению, что азотфиксирующая способность бобовых растений не является свойством самих растений, а возникает в результате инфицирования их корней почвенными бактериями, вызывающими образование клубеньков. Правильность этой гипотезы была доказана примерно в 1885 г., когда было сделано следующее наблюдение: если семена обработать химическими дезинфицирующими веществами так, чтобы стерилизация их поверхности не вызвала нарушения способности к прорастанию, а затем посеять их в сосудах со стерильной почвой, то выращенные растения никогда не образуют клубеньков. Рост таких растений строго лимитирован запасом в почве связанного азота. Образование клубеньков может быть индуцировано добавлением в почву измельченных клубеньков от растения того же вида. Как только произошло образование клубеньков,

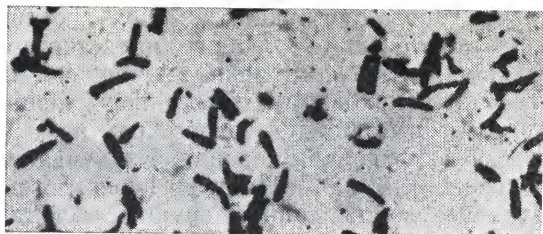


Рис. 27.4. Бактеронды в окрашенном препарате содержимого корневого клубенька ($\times 1050$). (Фото предоставлено Х. Торнтоном и Ротамстедской опытной станцией, Англия.)

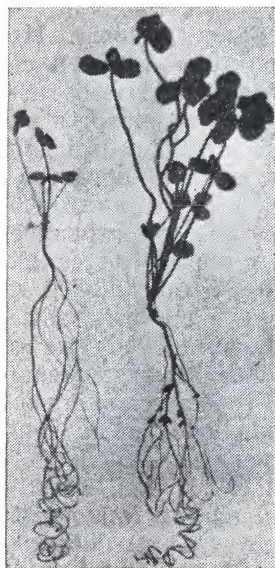


Рис. 27.5. Влияние образования клубеньков на рост растения. Два растения красного клевера, выращенные в среде с недостаточным содержанием связанного азота. Растение слева (без клубеньков) обнаруживает

очень слабый рост в результате дефицита азота. Растение справа (с клубеньками) обнаруживает нормальный рост. (Фото предоставлено Х. Торнтоном и Ротамстедской опытной станцией, Англия.)

рост растений перестает зависеть от запасов в почве связанного азота (рис. 27.5). Окончательное доказательство этого было получено в 1888 г., когда Бейеринку (M. W. Beijerinck) удалось выделить и культивировать находящиеся в клубеньках бактерии и показать, что стерильные семена образуют растения с характерными клубеньками, если их обработать чистыми культурами выделенных бактерий.

Клубеньковые бактерии. Важное значение, которое имеет фиксация азота для сельского хозяйства, было причиной того, что клубеньковые бактерии стали объектом многочисленных исследований. Эти организмы представляют собой граммотрицательные подвижные палочки, относящиеся к роду *Rhizobium*. Клубеньковые бактерии, выделенные из корней разных видов бобовых растений, очень близки между собой по морфологическим и культуральным свойствам. Однако при заражении растений они обнаруживают высокую степень специфичности по отношению к хозяину. Клубеньковые бактерии, выделенные из корней люпина, не могут вызывать образование клубеньков у гороха, и наоборот. Напротив,

клубеньковые бактерии гороха, чечевицы и бобов способны вызывать образование клубеньков у любого представителя этой группы бобовых. Таким образом, между клубеньковыми бактериями гороха и клубеньковыми бактериями люпина существуют различия, которые можно обнаружить на основании их специфичности в отношении хозяина. Клубеньковые бактерии можно подразделить на ряд групп перекрестного инфицирования. Штаммы любой данной группы обладают одним и тем же набором хозяев, который отличается от набора хозяев для других групп.

Клубеньковые бактерии обычно находятся в почве. Их число весьма различно и зависит от характера почвы и ее предыдущей сельскохозяйственной обработки. Поэтому нередко случается, что бобовая культура слабо развивается на данном участке земли вследствие того, что специфичные для нее клубеньковые бактерии или отсутствуют, или представлены в таком небольшом количестве, которого недостаточно для эффективного образования клубеньков. Образование клубеньков может быть обеспечено путем обработки семян чистой культурой клубеньковых бактерий, относящихся к нужной группе перекрестного инфицирования. Эффективные бактериальные культуры впервые появились в продаже в начале XX в., и в настоящее время заражение семян клубеньковыми бактериями является обычным сельскохозяйственным приемом. Это наиболее важный вклад, сделанный почвенной микробиологией в сельскохозяйственную практику.

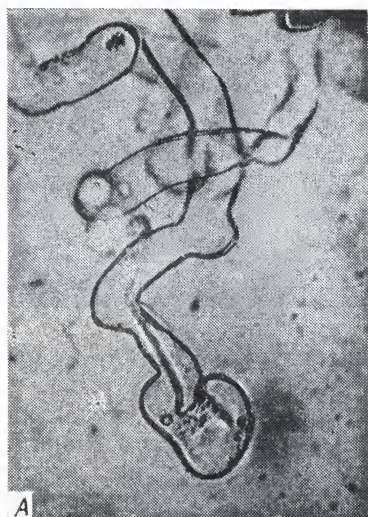
В то время как почва под небобовой культурой, например пшеницей, может содержать менее 10 клеток *Rhizobium* на 1 г, та же самая почва после хорошего урожая бобовой культуры содержит от 10^5 до 10^7 клеток *Rhizobium* на 1 г. Бобовые растения стимулируют развитие *Rhizobium* на участке почвы, расположенном в радиусе 10—20 мм от корней. Такое влияние весьма специфично: бактерии, отличные от *Rhizobium*, стимулируются мало или вообще не стимулируются, а рост тех видов *Rhizobium*, которые способны инфицировать данное бобовое растение, стимулируется сильнее, чем рост других видов *Rhizobium*. Вещества, ответственные за такую стимуляцию, еще не идентифицированы. Экспериментально установлено, что большое число клеток *Rhizobium* в ризосфере бобовых является следствием стимуляции свободноживущих клеток, а не освобождения бактерий из клубеньков, поскольку увеличение числа клеток происходит и в отсутствие активного образования клубеньков.

Число клубеньков, образованных на корнях бобовых, прямо пропорционально плотности клеток *Rhizobium* в почве, причем пропорциональность сохраняется вплоть до 10^4 клеток на 1 г. При повышении этой величины дальнейшего образования клубеньков не происходит, и их число может даже снижаться. Когда число клеток *Rhizobium* ограничено

Рис. 27.6. А. Корневой волосок вскоре после заражения клубеньковыми бактериями. Видна бактериальная инфекционная нить, проходящая через корневой волосок, конец которого

изогнулся в результате инфекции. (Фото предоставлено Х. Торнтоном и Ротамстедской опытной станцией, Англия.) Б. Инфекционная нить, пересекающая клетку центральной ткани клубень-

ка через 1—2 дня после заражения. [Goodchild D. J., Bergersen F. J., Electron microscopy of the infection and subsequent development of soybean nodule cells, J. Bacteriol., 92, 204 (1966).]



и образуется меньше клубеньков, их размер пропорционально увеличивается. В результате общий объем азотфиксирующей ткани на гектар бобовых растений остается достаточно постоянным.

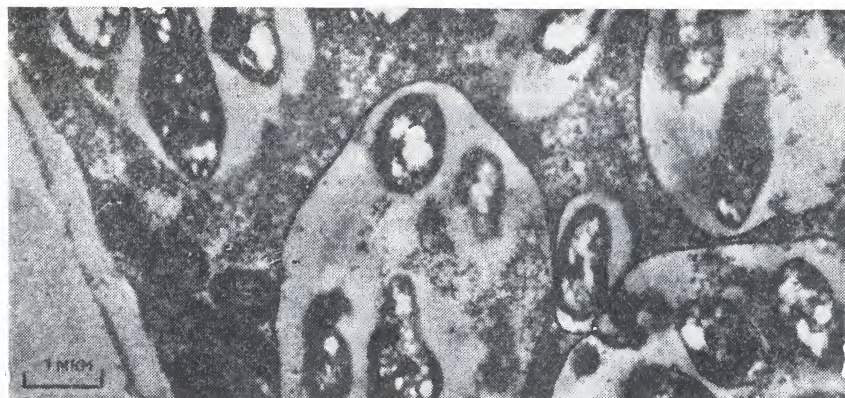
Процесс образования клубеньков. В гл. 26 мы суммировали все, что известно о взаимодействиях между корнем бобового растения и свободноживущей в почве бактерией — взаимодействиях, инициирующих заражение растения. Собственно заражение начинается с проникновения в корневой волосок группы клеток *Rhizobium* и сопровождается инвазией мембраны корневого волоска. Образуется трубка, выстланная целлюлозой, вырабатываемой клеткой хозяина. В этой трубке, которая называется *инфекционной нитью*, находятся бактерии (рис. 27.6). Инфекционная нить проникает в кору корня, проходя прямо через коровые клетки, а не между ними.

При прохождении через клетку нить может разветвляться с образованием пузырьков, содержащих бактерии. Стенки нити и пузырьков составляют единое целое с мембраной клетки-хозяина. В конечном счете бактерии освобождаются и переходят в цитоплазму клетки-хозяина. На электронных микрофотографиях ультратонких срезов корней бобовых

Рис. 27.27. Зрелая клетка клубенька с крупными мембранными образованиями, содержащими от четырех до шести бакте-

роидов. Дальнейшего роста бактерий не происходит. [Goodchild D. J., Bergersen F. J., Electron microscopy of

the infection and subsequent development of soybean nodule cells, J. Bacteriol., 92, 204 (1966).]



видно, что бактерии, поодиночке или небольшими группами, заключены в мембранную оболочку (рис. 27.7).

Развитие собственно клубенька начинается, когда инфекционная нить достигает тетраплоидной клетки ткани коры и стимулирует многократное деление как этой клетки, так и соседних диплоидных клеток, что приводит к формированию молодого клубенька. Клетки *Rhizobium* внедряются только в тетраплоидные клетки корня, а неинфицированная диплоидная ткань образует кору клубеньков (рис. 27.8). В молодых клубеньках большинство бактерий представляют собой палочковидные клетки, однако в дальнейшем они приобретают неправильную форму и становятся разветвленными, булавовидными или сферическими (типичные бактериоиды). В конце периода роста растения бактерии часто полностью исчезают из клубеньков; они отмирают, а вещества их клеток поглощает растение-хозяин.

Симбиотическая фиксация азота. До 1975 г. все попытки обнаружить хоть сколько-нибудь заметную фиксацию азота изолированными клетками клубеньковых бактерий, выращиваемых в чистой культуре, были безуспешными: казалось, что для фиксации азота необходимо их развитие внутри клубенька растения-хозяина. В 1975 г. три разные лаборатории одновременно сообщили, что чистые культуры нескольких штаммов *Rhizobium* начинают фиксировать азот, если их снабдить определенными питательными веществами. К таким веществам относятся арабиноза, ксилоза или галактоза в качестве источников углерода, дикарбоновые кислоты, например сукцинат, и источники связанного азота, такие, как глутамин или аспарагин.

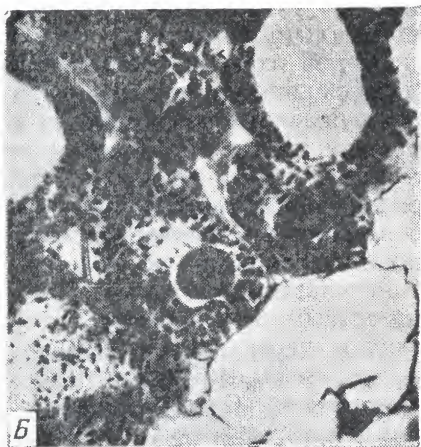
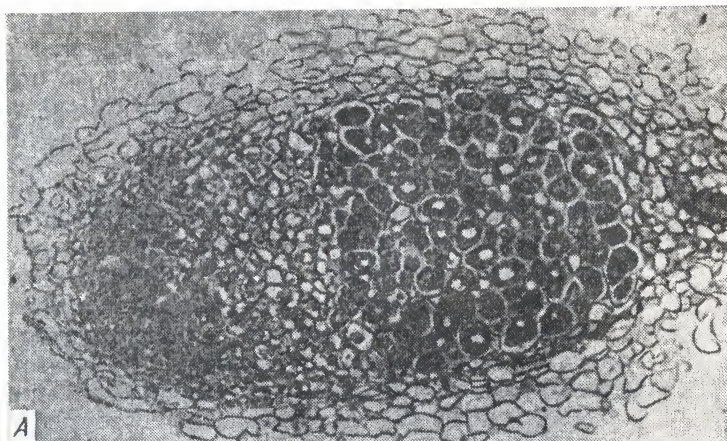


Рис. 27.8. А. Срез корневого клубенька. Темные клетки заполнены бактериями. Б. Срез клубенька при большом увеличении, позволяющем видеть отдельных бактерий в инфицированных клетках. (Фото предоставлено Х. Торнтоном и Ротамстедской опытной станцией, Англия.)

Способность фиксировать азот, выявляемая как нитрогеназная активность, была обнаружена лишь в клетках, растущих на поверхности твердых сред; по-видимому, условия, необходимые для фиксации азота, создаются только внутри плотной массы клеток, развивавшихся до этого за счет связанного азота. Возможно, что обязательным требованием является также частичный или полный анаэробноз, так как нитрогеназная активность в бесклеточных экстрактах азотфиксирующих бактерий подавляется кислородом; внутренняя часть клеточной массы, растущей на агаризованной среде или в клубеньке растения, находится, вероятно, в достаточно анаэробных условиях, чтобы предотвратить такое ингибирование¹.

¹ В настоящее время подтверждено, что способность клубеньковых бактерий фиксировать N_2 вне растения зависит от парциального давления O_2 . — *Прим. ред.*

Интересно, что здоровые клубеньки содержат гемоглобин (леггемоглобин), который не синтезируется ни растением, ни бактериями, если они выращиваются по отдельности. Гемоглобин обладает двумя хорошо известными свойствами: он может обратимо окисляться и жадно связывать кислород. Как известно, азотфиксирующая система чувствительна к кислороду; возможно, что внутренняя часть клубенька обеспечивает регуляцию окислительно-восстановительного потенциала, необходимую для поддержания активности бактериодов, причем гемоглобин играет определенную роль в такой регуляции.

Связь между мутуализмом и паразитизмом при симбиозе бактерий с бобовыми растениями. Рассматривая процесс формирования клубеньков, мы говорили об «инфицировании» корневого волоска бактериями, присутствующими в почве. Возникновение симбиоза в корневых клубеньках во многих отношениях напоминает заражение растений патогенными бактериями; первоначально происходит разрушение поверхности корневых волосков, сопровождаемое проникновением и размножением в них бактерий, что в дальнейшем вызывает аномальный рост окружающих растительных тканей. Тем не менее взаимоотношения между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями обычно не считают паразитическими на том очевидном основании, что растение заметно выигрывает от подобной ассоциации. Однако в последние годы обнаружено, что такая ассоциация не обязательно идет на пользу растению. Результаты опытов по инокуляции, проведенных с многими штаммами бобовых бактерий, принадлежащих к одной группе перекрестного инфицирования, показали, что все эти штаммы вызывают образование клубеньков у чувствительного растения. Однако симбиоз с некоторыми штаммами оказывается «неэффективным» (т. е. не приводит к активной фиксации азота). В результате растение мало выигрывает или вообще не выигрывает от такой ассоциации, хотя обосновавшиеся в корнях бактерии все-таки извлекают для себя пользу, развиваясь за счет веществ, образуемых растением-хозяином. Другими словами, в этом особом случае симбиоз, который в норме является мутуалистическим (взаимовыгодным), становится паразитическим. Правда, такой паразитизм выражен в смягченной форме, поскольку повреждение растения полностью локализуется в корневой системе и не ведет к его гибели. Тем не менее данная ситуация лишь по степени, а не по характеру отличается от ситуации, когда истинно патогенная бактерия проникает в растение и поселяется в растительных тканях. Этот пример хорошо иллюстрирует упомянутый в гл. 26 факт, свидетельствующий о том, что граница между мутуализмом и паразитизмом весьма нечеткая.

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ И НЕБОБОВЫЕ РАСТЕНИЯ

Корневые клубеньки образуются не только на бобовых растениях. Существует десять родов небобовых растений, в каждом из которых один или несколько видов характеризуются присутствием корневых клубеньков. Эти роды, из которых типичным является *Alnus* (ольха), перечислены в табл. 27.2.

ТАБЛИЦА 27.2

АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ РОДЫ НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ¹

Порядок: Coriariales	Порядок: Rhamnales
Семейство: Coriariaceae	Семейство: Elaeagnaceae
Род: <i>Coriaria</i>	Роды: <i>Hippophaë</i>
Порядок: Myricales	<i>Shepherdia</i>
Семейство: Myricaceae	<i>Elaeagnus</i>
Род: <i>Myrica</i>	Семейство: Rhamnaceae
Порядок: Fagales	Роды: <i>Ceanothus</i>
Семейство: Betulaceae	<i>Discaria</i>
Род: <i>Alnus</i>	Порядок: Urticales
Порядок: Casuarinales	Семейство: Ulmaceae
Семейство: Casuarinaceae	Род: <i>Trema</i>
Род: <i>Casuarina</i>	

¹ Таксономия в соответствии с Hutchinson J., The Families of Flowering Plants, 3rd ed. New York, Oxford University Press (Clarendon), 1973.

Они не особенно тесно связаны друг с другом и распределены среди семи семейств; все эти семейства, кроме одного, включают также безклубеньковые роды.

Еще в 1896 г. было показано, что ольха (род *Alnus*) хорошо растет в свободной от связанного азота среде только при том условии, если на ее корнях имеются клубеньки; к 1962 г. аналогичные опыты были проведены с представителями восьми из десяти родов растений, перечисленных в табл. 27.2. Было высказано предположение, что клубеньки этих растений, так же как и клубеньки бобовых, фиксируют атмосферный азот. Со временем это было подтверждено во всех случаях в опытах с использованием ¹⁵N. Другие части растения не способны фиксировать азот.

Процесс фиксации азота небобовыми растениями во многих отношениях напоминает аналогичный процесс у бобовых. Как у тех, так и у других фиксация азота подавляется окисью углерода, а также высокими концентрациями кислорода или водорода; она незначительна у растений, испытывающих дефицит кобальта или молибдена. Наконец, в клубеньках трех групп небобовых (*Alnus*, *Murica* и *Casuarina*) спектроскопическими методами обнаружен гемоглобин.

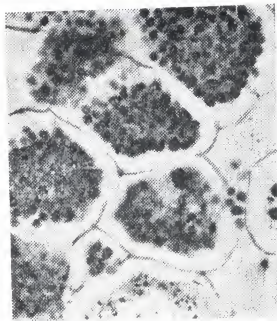


Рис. 27.9. Участок коры на поперечном срезе корневого клубенька *Alnus glutinosa*. Видны темноокрашенные «пузырьки», представляющие собой, по-видимому, азотфиксирующих эндосимбионтов. [Bond G., The Root nodules of non-leguminous angiosperms, in Symbiotic Associations: Thirteenth Symposium of the Society for General Microbiology, New York, Cambridge University Press, 1963 (срез приготовлен Е. Бойдом, микрофотография — У. Андерсоном).]

При микроскопическом изучении окрашенных срезов клубеньков небобовых растений в них всегда обнаруживаются структуры, напоминающие симбиотические микроорганизмы (рис. 27.9). На основе морфологии большинство исследователей рассматривают их как актиномицеты. Актиномицеты, действительно, были выделены из такого материала, однако остается неясным, представляют ли эти выделенные культуры азотфиксирующих симбионтов.

Образование клубеньков можно легко индуцировать у большинства видов растений путем нанесения на корни суспензии разрушенных клубеньков; необработанные корни в контрольных экспериментах образуют мало клубеньков или совсем их не образуют. Какой бы ни была природа микробных симбионтов, опыты по перекрестному инфицированию с использованием разрушенных клубеньков показывают, что они обладают групповой специфичностью. Перекрестное инфицирование часто можно осуществить между разными видами данного рода растения-хозяина, но не между видами из разных родов, за исключением трех родов: *Elaeagnus*, *Hippophaë* и *Shepherdia*, принадлежащих к одному семейству. Такая специфичность напоминает группы перекрестного инфицирования клубеньковых бактерий.

Недавно было обнаружено, что клубеньковый симбионт одного из небобовых растений, *Trema aspera*, принадлежит к роду *Rhizobium*; после выделения он может инфицировать не только *Trema*, но и ряд бобовых. Клубеньки *T. aspera* имеют сходство с клубеньками бобовых, а не с клубеньками других небобовых растений, содержащими актиномицеты; *Trema* представляет собой первый известный случай небобового хозяина для бактерий рода *Rhizobium*.

СИМБИОЗЫ, В КОТОРЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИЙ ПАРТНЕР ЯВЛЯЕТСЯ МИКРООРГАНИЗМОМ

ЭНДОСИМБИОНТЫ ПРОСТЕЙШИХ: ЗООХЛОРЕЛЛЫ И ЗООКСАНТЕЛЛЫ

Многие простейшие, относящиеся к реснитчатым и корне-
ножкам, служат хозяевами для эндосимбиотических водорослей. Пресноводные формы, как правило, представлены зелеными водорослями, принадлежащими к отделу Chlorophyta; морские формы — это обычно водоросли желтого или бурого цвета, которые относятся к динофлагеллятам. Эти две группы симбионтов называются соответственно *зоохлореллами* и *зооксантеллами*.

На рис. 27.10 показаны зооксантеллы, освобожденные при разрушении простейшего — фораминиферы. Установлено, что внутри своих хозяев как зоохлореллы, так и зооксантеллы всегда имеют кокковидную форму. Однако при культивировании вне организма хозяина зооксантеллы иногда образуют подвижные зооспоры, являющиеся типичными динофлагеллятами. Каждая клетка простейшего содержит от 50 до нескольких сотен водорослей; поддержание симбиоза обеспечивается близкими скоростями роста обоих партнеров. Эндосимбионты устойчивы к перевариванию хозяином. Такая устойчивость несомненно связана с их локализацией в цитоплазме хозяина. Следует напомнить, что микроорганизмы захватываются клетками фаготрофных простейших путем фагоцитоза и оказываются внутри пищеварительных вакуолей, образованных в результате инвагинации клеточной мембраны. Их переваривание осуществляется гидролитическими ферментами, поступающими в эти вакуоли из лизосом. Эндосимбионты, находящиеся в цитоплазме, не попадают в пищеварительные вакуоли и благодаря этому не подвергаются действию пищеварительных ферментов лизосом.

Как мы уже обсуждали в гл. 26, преимущество симбиоза между фотосинтезирующим и нефотосинтезирующим партнерами заключается в том, что оба организма могут совместно осуществлять полные циклы превращений углерода и кислорода. Фотосинтезирующий партнер использует энергию света для превращения CO_2 в органические продукты и в то же время освобождает из воды O_2 ; нефотосинтезирующий партнер использует O_2 для окисления органических соединений в процессе дыхания, образуя в качестве побочного продукта CO_2 . Это, по-видимому, и служит основой чрезвычайно широкого распространения эндосимбиозов водорослей с простейшими.

О тесной природе этой взаимосвязи убедительно свидетельствует тот факт, что многие простейшие обнаруживают



Рис. 27.10. Зооксантеллы, освобожденные из разрушенной фораминиферы. [McLaughlin J., Zahl P., *Endozoic algae, in Symbiosis*, Vol. I, Henry S. M. (editor), New York, Academic Press, 1966 (фотографии сделаны Дж. Лн и Х. Фрейденталем).]

фототаксис, если они содержат фотосинтезирующий эндосимбионт. В случае парameций было показано, что фоторецептором служит водоросль. Перемещения простейшего, по-видимому, контролируются внутриклеточной концентрацией кислорода, образуемого водорослью в результате фотосинтеза, так как фототаксис обнаруживается только при ограничении снабжения кислородом извне.

ЭНДОСИМБИОНТЫ ПРОСТЕЙШИХ: ЦИАНЕЛЛЫ

Цианобактерии-симбионты называются *цианеллами*. Они обнаружены у некоторых родов пресноводных простейших (например, у жгутиковых *Cyanophora* и *Pelaiaina*, а также у амeбoвидной корненожки *Paulinella*).

В клетке *Pelaiaina* содержится от одной до шести цианелл. Симбиоз поддерживается путем сбалансированного деления клеток, но иногда в результате нарушения этого механизма образуются клетки простейшего, не содержащие цианелл. Однако у *Cyanophora* и *Paulinella* симбиотическая ассоциация регулируется очень строго: в клетке простейшего-хозяина обычно присутствуют по две цианеллы, и каждая дочерняя клетка простейшего при делении получает одну цианеллу. Затем делится симбионт, восстанавливая прежнее соотношение (две клетки симбионта на одну клетку хозяина).

Цианеллы как симбионты простейших были открыты в 1929 г. Пашером (А. Pascher). Нарисованные им клетки *Cyanophora* показаны на рис. 27.11. Недавно *Cyanophora* была вновь исследована с использованием методов электронной микроскопии и анализа нуклеиновых кислот. На рис. 26.10, А приведена электронная микрофотография среза

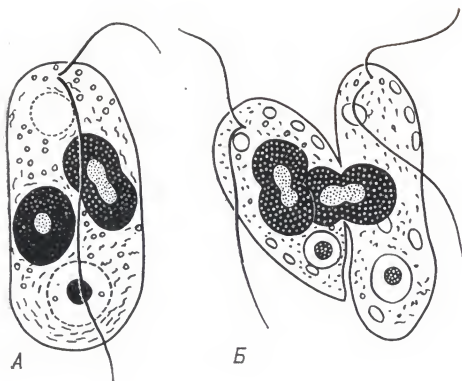


Рис. 27.11. Простейшее *Суанопхора* со своими эндосимбиотическими цианобактериями. А. Одна из бактериальных клеток приступила к делению. Б. В момент деления клетки-хозяина каждая дочерняя клетка получает одного симбионта. Ср. с рис. 26.10, А. (По А. Пашеру.)

C. paradoxa. Клетка эндосимбионта имеет тонкое строение, типичное для цианобактерий, за исключением того, что у нее отсутствует клеточная стенка, а роль внешнего слоя играет клеточная мембрана. Можно разделить нуклеиновые кислоты симбионта и хозяина и показать, что они типичны для прокариотических и эукариотических организмов соответственно.

СИМБИОЗ ВОДОРΟΣЛЕЙ И ГРИБОВ: ЛИШАЙНИКИ

Лишайник представляет собой сложный организм, состоящий из особого гриба, обычно аскомицета, живущего в ассоциации с одним (иногда двумя) видом водорослей или цианобактерий¹. Симбионты образуют вегетативное тело, или *таллом* (*слоевище*), строение которого, как макро-, так и микроскопическое, характерно для каждого «вида» лишайника. На основе внешнего строения талломов лишайники делятся на три типа. *Накипные* (*корковые*) лишайники прочно присоединяются к своему субстрату (скалам или коре деревьев). *Листоватые* лишайники имеют листовидную форму и менее прочно связаны с субстратом. *Кустистые* лишайники образуют висячие тяжи или стоячие стебли. На рис. 27.12 показаны представители каждого типа, а также поперечные срезы талломов, на которых видна их внутренняя организация. Основная часть таллома состоит из грибных гиф. У большинства видов талломы дифференцированы в ткани разного типа: плотно упакованный слой *коры*, рыхлая *сердцевина* и (у листоватых лишайников) *ризины* — участки, с помощью которых лишайник присоединяется к субстрату. Клетки водорослей обычно расположены тонким слоем сразу под корой. Однако у немногих видов лишайников грибные гифы и клетки водорослей распределены в талломе случайным образом.

¹ При рассмотрении лишайников общее название «водоросль» будет использоваться для обозначения фотосинтезирующего партнера.

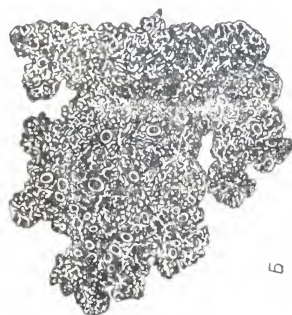
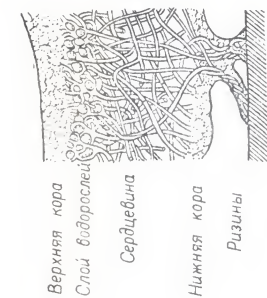


Рис. 27.12. Лишайники трех основных типов. *А.* Наकिनные лишайники, прочно присоединяющиеся к своему субстрату. *Б.* Листоватые лишайники, имеющие листовидную форму и менее прочно присоединяющиеся к своим субстратам. *В.* Кустистые лишайники, представляющие собой висячие тяжи или стоячие полые стебли. На диаграммах справа показаны вертикальные срезы накиннито и листоватого лишайников, а также горизонтальный срез кустистого лишайника. [Ahmadjian V., The Lichen Symbiosis, Waltham, Mass., Blackwell, 1967.]

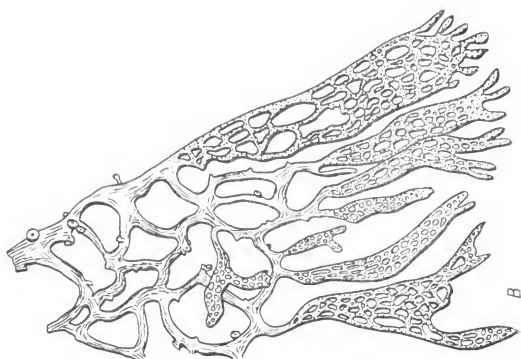
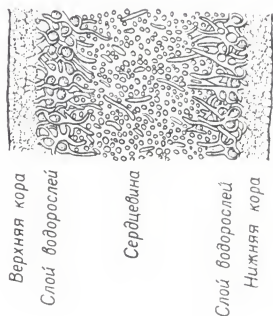


Рис. 27.13. Электронная микрофотография среза лишайника *Lecanora rubina*, на которой видна грибная гаустория, проникающая в клетку водо-

росли (*Trebouxia*). Гаустория проходит через внешний слой клеточной стенки, но не проникает через ее внутренний слой или мембрану клетки во-

доросли. [Jacobs J. B., Ahmadjian V., The Ultrastructure of lichens. I. A general survey. J. Phycol., 5, 227 (1969).]



Электронные микрофотографии ультратонких срезов показывают, что у большинства лишайников в каждую клетку водорослей проникает одна или большее число грибных гаусторий. У некоторых лишайников гаустории проходят глубоко в клетки водорослей, и мембрана водорослевой клетки впячивается, образуя вокруг гаустории чехол (рис. 27.13). Во всех случаях гаустории проникают только через клеточную стенку водоросли¹. Иногда у грибов отсутствуют гаустории; в этом случае наблюдается тесный контакт между клеточными стенками водоросли и гриба. У таких видов клеточные стенки бывают очень тонкими.

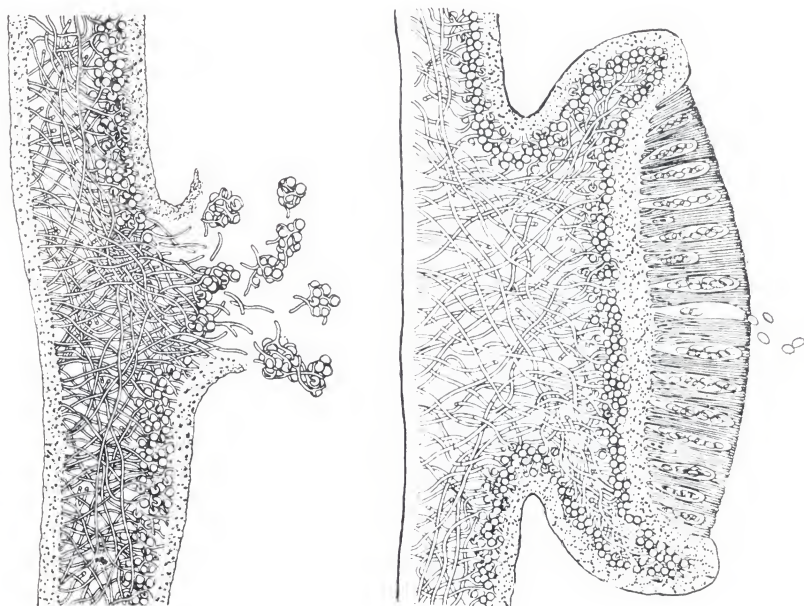
Большинство лишайников размножаются путем отделения *соредий* — небольших фрагментов, состоящих из клеток во-

¹ У некоторых примитивных форм накипных и слизистых лишайников гаустории проникают через клеточную мембрану водоросли и развиваются внутри протопласта. — Прим. перев.

Рис. 27.14. Размножение лишайника. А. Путь освобождения соредий, состоящих из клеток водорослей и грибных гиф. Б. Путь освобождения

грибных спор (в данном случае аскоспор). При их прорастании развивается грибной мицелий, который, приходя в контакт с клеткой водо-

росли, может образовывать лишайник. [Ahmadjian V., The Fungi of lichens, Sci. Am., 208, 122 (1963).]



дорослей и грибных гиф (рис. 27.14, А). Кроме того, в лишайниках образуются грибные споры (рис. 27.14, Б). Как будет показано в дальнейшем, существуют убедительные данные, свидетельствующие о том, что образованные при прорастании этих спор гифы вступают в контакт с клетками свободных водорослей и инициируют формирование нового таллома лишайника.

Морфологические последствия симбиотического существования. Относительная легкость разделения симбиотических партнеров лишайника и выращивания их в чистой культуре делает возможным сравнение морфологии каждого партнера в виде свободноживущего организма и симбионта.

При образовании лишайников фотосинтезирующий партнер может существенно изменяться. Например, некоторые нитевидные цианобактерии не способны давать нормальные нити, находясь в талломе; здесь они существуют в виде отдельных клеток, окруженных грибной тканью. После выделения из таллома эти бактерии восстанавливают нитевидный характер своего роста. Зеленые водоросли, являющиеся частью таллома лишайника, изменяются таким образом, что перестают образовывать характерные для них зооспоры.

В составе лишайника грибной партнер дает плодовые структуры (аскоспоры и споры бесполого размножения), однако, за редкими исключениями, не образует их после деления и выращивания в свободном состоянии. Свободноживущий гриб не способен также к формированию таллома, состоящего из коры, сердцевины и других тканей. Следовательно, каждый партнер весьма специфическим образом влияет на морфологию другого партнера.

Видовая принадлежность и специфичность симбиотических партнеров. Ассоциация гриба с водорослью в лишайнике не является специфичной. Так, водоросль данного вида может быть связана в лишайнике с любым из целого ряда грибов, и, наоборот, данный гриб может вступать в ассоциацию с любой из многих водорослей. В лишайниках найдены фотосинтезирующие симбионты, принадлежащие к 26 родам, из которых 17 родов составляют зеленые водоросли, один род — желто-зеленые водоросли и 8 родов — цианобактерии. Зеленая водоросль *Trebouxia* найдена более чем в половине описанных лишайников. Около 5—10% всех лишайников содержат цианобактерии, из которых наиболее обычным представителем является *Nostoc*.

Находящиеся в лишайниках грибы относятся к нескольким сотням родов; большинство из них — аскомицеты, но встречается также и небольшое число несовершенных грибов и базидиомицетов.

Трудно сказать что-либо определенное о таксономических связях между грибами, входящими в состав лишайников, и свободноживущими аскомицетами. Исторически сложилось так, что лишайники изучались и классифицировались специалистами, которые дали им особые названия, основанные на морфологии составного растения. Когда лишайник разделяют в опыте на два составляющих его компонента, за грибом сохраняют название данного лишайника. Таким образом, говорят, что лишайник *Cladonia cristatella* состоит из гриба *Cladonia cristatella* и водоросли *Trebouxia erici*.

До сих пор не было сделано никаких попыток объединить таксономические системы грибов в составе лишайников и свободноживущих грибов. Хотя морфология лишайника определяется грибом и описание лишайников включает много признаков грибов (например, форму и число аспоспор), вполне можно предположить, что некоторые описательные признаки лишайника изменяются в соответствии с тем, какая водоросль в нем присутствует. Таким образом, кажется весьма вероятным, что некоторые различающиеся «виды» лишайников содержат один и тот же гриб. Если это так, то практика давать название лишайника выделенному грибному компоненту во многих случаях оказывается ошибочной.

Формирование и сохранение симбиоза. Многие грибы, входящие в состав лишайников, выделены и выращены в чистой

культуре. В условиях ограниченного снабжения питательными веществами их гифы окружают почти любой встречаемый ими круглый объект подходящего размера. Если этот объект — клетка водоросли, то в нее проникают гаустории. Полагают, что подобный тип наблюдаемой в опыте ассоциации имитирует первые стадии истинного образования лишайника в природе. Последующие стадии этого процесса можно осуществить в опытах со смешанными культурами гриба и водоросли, выделенными из одного и того же лишайника, если выращивать их совместно в условиях постепенного высыхания. Через несколько месяцев образуются структуры, типичные для таллома исходного лишайника, включая грибные плодовые тела и споры бесполого размножения.

Нормальное развитие лишайника при его культивировании продолжается только до тех пор, пока условия роста неблагоприятны для независимого развития индивидуальных компонентов. Ограниченное снабжение питательными веществами и чередование периодов увлажнения и высушивания благоприятствуют сохранению симбиозов. Если же лишайник в течение длительного срока находится на богатой питательной среде с достаточной влажностью, то союз распадается и водоросли приобретают форму, характерную для свободноживущего растения.

Физиология лишайников. Ассоциации лишайников, по-видимому, эволюционировали путем отбора на способность выдерживать предельную засуху и использовать следы необходимых минеральных веществ. Этот вывод следует из экологии лишайников, а также из рассмотренных ранее экспериментальных наблюдений. В природе лишайники растут на открытых поверхностях скал и стволах деревьев, где не могут закрепиться другие формы жизни.

Лишайник может оставаться жизнеспособным в высушенном состоянии в течение нескольких месяцев; при увлажнении содержание воды в нем может измениться за 30 с от 2 до 300% в расчете на сухое вещество. Способность лишайников использовать следы минеральных веществ, вероятно, связана с тем, что они синтезируют и выделяют *лишайниковые кислоты* — органические соединения, которые растворяют минеральные вещества и дают с ними хелаты. Хелатообразование — процесс связывания ионов металлов с органическими лигандами, — несомненно, играет важную роль в переводе минеральных веществ в растворимое состояние и в поглощении их лишайниками.

Описано свыше 100 различных лишайниковых кислот. Большинство из них содержит не менее двух остатков фенилкарбоновой кислоты с алифатическими цепями. В изолированном состоянии лишайниковые водоросли и, за очень немногими исключениями, лишайниковые грибы не образуют этих соединений. Однако некоторые свободноживущие грибы

продуцируют сходные соединения, и кажется вероятным, что биосинтез этих веществ в лишайнике осуществляется грибом.

Таким образом, образование лишайниковых кислот — одно из проявлений симбиоза. Эти кислоты часто выделяются в больших количествах и кристаллизуются на поверхности лишайника. Было высказано предположение, что кроме вышеупомянутой функции хелатообразующих соединений они выполняют также роль ингибиторов роста других микроорганизмов. Многие из лишайниковых кислот действительно обнаруживают сильную антибиотическую активность, а одна из них — усниновая кислота — широко используется в некоторых европейских странах в качестве химиотерапевтического средства для наружного применения.

Растут лишайники чрезвычайно медленно; типичным является годичное увеличение радиуса на 1 мм и менее. Однако скорость роста варьирует в широких пределах и у определенных видов может достигать в среднем 2—3 см в год. Несмотря на медленный рост, в некоторых местностях лишайники составляют значительную часть растительности; фактически они являются основным видом корма для северных оленей и карibu в арктических районах.

Способность лишайников использовать следы питательных веществ, обычно полезная для этих организмов, становится вредной для них в районах промышленного загрязнения воздуха. В таких районах популяция лишайника заметно уменьшается или даже полностью исчезает.

Значение лишайникового симбиоза. Тот факт, что в условиях, благоприятных для роста свободноживущих форм, симбиоз распадается, показывает, что оба партнера лишайника способны к самостоятельному существованию. Таким образом, данная ассоциация дает взаимный выигрыш *только в очень специфических экологических ситуациях* (т. е. в условиях чрезвычайного дефицита питательных веществ и крайних пределов увлажнения и высыхания).

Польза, получаемая грибом от симбиоза в таких условиях, очевидна: он зависит от водоросли как от источника органических питательных веществ. Опыты с радиоактивной меткой подтвердили, что фиксированная водорослью CO_2 быстро поступает в грибной мицелий. В лишайниках, содержащих в качестве симбионтов цианобактерии, гриб также получает непосредственный выигрыш от фиксации этими микроорганизмами атмосферного азота.

Вклад гриба в ассоциацию менее ясен, но есть достаточное основание полагать, что он облегчает поглощение воды и минеральных веществ, а также защищает фотосинтезирующего партнера от высыхания и избыточной интенсивности света. Однако свободноживущие водоросли в ограниченной степени способны развиваться и в той экологической нише,

которую населяют лишайники; поэтому можно думать, что они выигрывают от симбиоза меньше, чем грибы.

ЭНДОСИМБИОЗЫ ВОДОРΟΣЛЕЙ С ВОДНЫМИ БЕСПОЗВОНОЧНЫМИ

Эндосимбиотические водоросли встречаются более чем у 100 родов водных беспозвоночных, особенно у кишечнополостных (медуз, кораллов, актиний, гидр), плоских червей (главным образом планарий), губок и моллюсков (кальмаров). Их часто находят в цитоплазме клеток, связанных с перевариванием пищи (например, в амебоцитах губок или фагоцитирующих клетках крови у определенных видов моллюсков).

Некоторые из этих животных-хозяев приобретают своих симбионтов с пищей либо прямым путем, что имеет место у губок, питающихся водорослями, либо косвенным, как у хищных животных, получающих водоросли в тканях своих жертв. Однако, как только произошло инфицирование, обычно устанавливается постоянный симбиоз, при котором внутриклеточное развитие водорослей ограничено.

У большинства кишечнополостных и у некоторых других беспозвоночных водоросли передаются следующему поколению через цитоплазму яйца. В таких случаях невозможно получить животных, не содержащих симбионтов, с тем чтобы определить значение подобных форм симбиоза. Тем не менее опыты с меченой изотопами CO_2 показали, что органические соединения, образованные водорослями в результате фотосинтеза, используются тканями хозяина. Можно также продемонстрировать, что в процессе фотосинтеза генерируется в несколько раз больше кислорода, чем необходимо для обеспечения дыхательной потребности комплекса хозяин — водоросль. Хотя окружающая среда обеспечивает животное как растворенным кислородом, так и органическими веществами (в основном в виде планктона), в процессе эволюции были выработаны специальные механизмы для сохранения симбиоза и это заставляет предположить, что симбиоз в данном случае имеет большое экологическое значение.

У некоторых моллюсков фотосинтезирующими симбионтами являются не клетки водорослей, а *интактные переживающие хлоропласты*, освобождающиеся при переваривании клеток водорослей хозяином. Таким образом, животные клетки, приобретая растительную органеллу, становятся фотосинтезирующими. Можно сказать, что в определенном смысле между животной клеткой и хлоропластом существует симбиотическая связь; хотя хлоропласт не растет и не делится в своем новом «хозяине», он может сохраняться и функционировать в течение нескольких месяцев.

Обнаруженные у водных беспозвоночных водоросли принадлежат к очень небольшому числу отделов. Это либо зе-

ленные водоросли, либо динофлагелляты: зоохлореллы и зооксантеллы соответственно. Полагают, что водоросли выигрывают от внутриклеточного обитания, обеспечивающего их богатым запасом необходимых питательных веществ. Пример симбиоза такого типа (тридакновые моллюски) уже описан в гл. 26.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Ahmadjian V., Hale M. E. (eds) (1973), *The Lichens*, New York, Academic Press.
- Marks G. C., Kozłowski T. T. (eds) (1973), *Ectomycorrhizae, Their Ecology and Physiology*, New York, Academic Press.

Обзоры

- Ahmadjian V. (1970), *The Lichen Symbiosis: Its Origin and Evolution*, Evolutionary Biology, Vol. 4, Dobzhansky T., Hecht M. K., Steere W., eds., p. 163. New York, Appleton-Century-Crofts.
- Barnett H. L., Binder F. L. (1973), *The Fungal Host-Parasite Relationship*, Ann. Rev. Phytopathol., **11**, 273.
- Bushnell W. R. (1972), *Physiology of Fungal Haustoria*, Ann. Rev. Phytopathol., **10**, 151.
- Marx D. H. (1972), *Ectomycorrhizae as Biological Deterrents to Pathogenic Root Infections*, Ann. Rev. Phytopathol., **10**, 429.
- Mosse B. (1973), *Advances in the Study of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza*, Ann. Rev. Phytopathol., **11**, 171.
- Muscatine L., Greene R. W. (1973), *Chloroplasts and Algae as Symbionts in Molluscs*, Int. Rev. Cytol., **36**, 137.
- Slankis V. (1974), *Soil Factors Influencing Formation of Mycorrhizae*, Ann. Rev. Phytopathol., **12**, 437.
- Smith D., Muscatine L., Lewis O. (1969), *Carbohydrate Movement from Autotrophs to Heterotrophs in Parasitic and Mutualistic Symbiosis*, Biol. Rev., **44**, 17.
- Taylor D. L. (1973), *Algal Symbionts of Invertebrates*, Ann. Rev. Microbiol., **27**, 171.

Оригинальные статьи

- Kurz W. G. W., La Rue T. A. (1975), *Nitrogenase Activity in Rhizobia in the Absence of Plant Host*, Nature, **256**, 407.
- McComb J. A., Elliott J., Dillworth M. B. J. (1975), *Acetylene Reduction by Rhizobium in Pure Culture*, Nature, **256**, 409.
- Pagan J. D., Child J. J., Scowcraft W. R., Gibson A. H. (1975), *Nitrogen Fixation by Rhizobium Cultured in a Defined Medium*, Nature, **256**, 406.
- Trinkick M. J. (1973), *Symbiosis between Rhizobium and the Non-Legume, Trema aspera*, Nature, **244**, 459.

28 СИМБИОТИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ДВУМЯ НЕФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИМИ ОРГАНИЗМАМИ

Во многих симбиозах с участием микроорганизмов ни один из партнеров не является фотосинтезирующим. Все рассматриваемые в этой главе примеры представляют собой взаимовыгодные симбиозы. Единственным исключением является *Bdellovibrio*, который паразитирует на других бактериях и убивает их.

При взаимовыгодных симбиозах между нефотосинтезирующими партнерами микроорганизм может быть связан с другим микроорганизмом (например, бактериальные эндосимбионты простейших) или с многоклеточным организмом. В одних случаях микробный симбионт выполняет для своего хозяина определенную метаболическую функцию, такую, как синтез фактора роста или переваривание сложного углевода; в других — он предохраняет своего хозяина от инвазии патогенных паразитов. В свою очередь хозяин обеспечивает симбионта защитой, благоприятным положением или питанием, выполняя одну или большее число таких функций.

СИМБИОЗЫ, В КОТОРЫХ ОБА ПАРТНЕРА ЯВЛЯЮТСЯ МИКРООРГАНИЗМАМИ

BDELLOVIBRIO BACTERIOVORUS

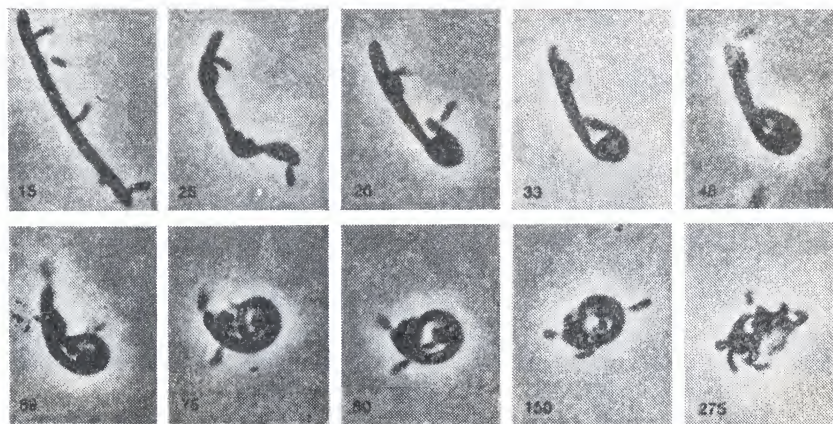
Бделловибрионы, типичным представителем которых является *Bdellovibrio bacteriovorus* (см. рис. 5.50), — это очень мелкие грамотрицательные бактерии с единственным полярным жгутиком. Они атакуют и убивают других грамотрицательных бактерий, размножаясь в пространстве между стенкой и мембраной клетки-хозяина. Штаммы, выделяемые из природного источника, являются облигатными паразитами; однако изредка в культурах, выращенных в клетках хозяина, можно найти независимые от хозяина варианты. Такие штаммы способны развиваться *in vitro* на пептонных средах, к которым добавлены витамины группы В.

Жизненный цикл *Bdellovibrio* необычен. Он начинается с энергичного столкновения паразита с клеткой-хозяином: скорость движения клетки *Bdellovibrio* так велика (она достигает величины, равной длине 100 клеток в 1 с), что во много раз большая клетка-хозяин проходит после толчка по инерции значительное расстояние. Паразит немедленно прикрепляется к клеточной стенке хозяина своим безжгутиковым концом и начинает вращаться вокруг своей длинной оси со скоростью, превышающей 100 об/с. Вскоре после этого клетка-хозяин округляется (рис. 28.1). В клеточной стенке в ме-

Рис. 28.1. Последовательные фазово-контрастные микрофотографии, показывающие, как *Bdellovibrio* атакует *Pseudomonas tabaci*. На каждой фотографии указано время в минутах, прошедшее после смешивания

суспензий клеток хозяина и паразита. Через 15 мин несколько маленьких клеток *Bdellovibrio* присоединяются к клетке-хозяину, все еще сохраняющей нормальную форму. После этого клетка-хозяин претер-

певает постепенное изменение формы, завершающееся ее полным лизисом через 275 мин. [Starr M. P., Baigent N. L., Parasitic interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with other bacteria, J. Bacteriol., 91, 2006 (1966).]



сте прикрепления паразита появляется отверстие, и клетка *Bdellovibrio* проникает в пространство между стенкой и мембраной клетки-хозяина.

По-видимому, этот этап требует ферментативного воздействия со стороны паразита, который выделяет протеазы, липазы и лизоцимоподобную мурамидазу. Кроме того, быстрое вращение клетки *Bdellovibrio* может вносить свой вклад в общий процесс проникновения паразита в клетку-хозяина благодаря эффекту механического сверления. Образующееся в клеточной стенке хозяина отверстие имеет меньший диаметр, чем паразит, который, следовательно, должен сократиться, чтобы пройти через это отверстие.

Проникновение бделловибриона в клетку происходит чрезвычайно быстро, занимая всего несколько секунд. Однако между прикреплением паразита и началом его вхождения в клетку проходит 5 или 10 мин, в течение которых в клеточной стенке хозяина, а возможно, и паразита происходят изменения. То, что клетка-хозяин может округляться еще до того, как становится заметным присутствие в ней бделловибриона, заставляет предположить, что под действием мурамидазы паразита она превращается в сферопласт. Действительно, клетка-хозяин может лизироваться без проникновения в нее паразита, если ее одновременно атакует множество бделловибрионов. Тем не менее округленные клетки-хозяева не

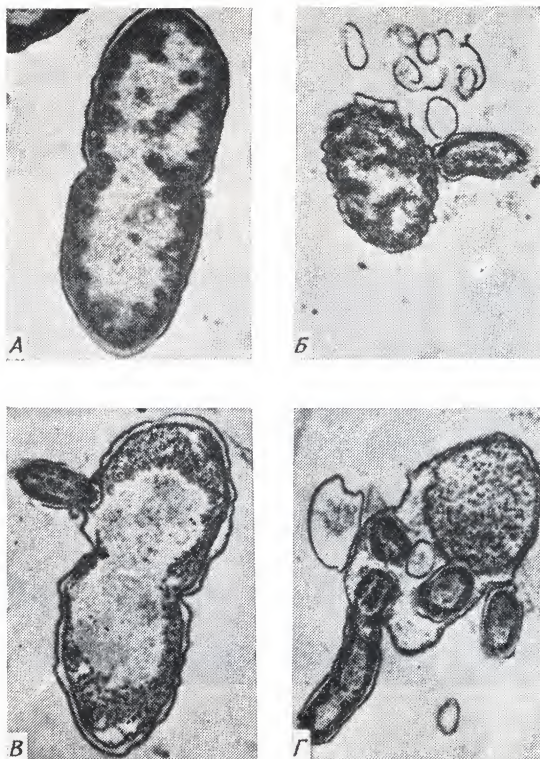


Рис. 28.2. Последовательные электронные микрофотографии ультратонких срезов, показывающие взаимодействие *Bdellovibrio* с чувствительной бактерией-хозяином *Erwinia amylovora* ($\times 28\,300$). А. Неинфицированная клетка-хозяин. Б. Прикрепление *Bdellovibrio*. В. Проникновение *Bdellovibrio* через клеточную стенку хозяина. Г. Поздняя стадия инфицирования, показывающая освобождение потомства *Bdellovibrio*. [Starr M. P., Baigent N. L., Parasitic interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with other bacteria, J. Bacteriol., **91**, 2006 (1966).]

являются осмотически чувствительными, так что термин «сферопласт» может быть не вполне точным.

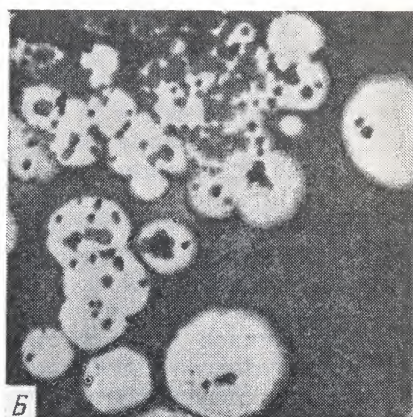
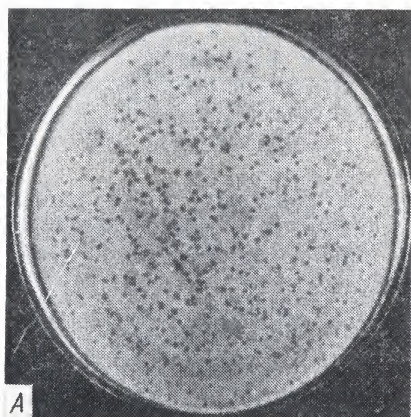
Бделловибрион, потерявший свой жгутик в процессе проникновения в клетку-хозяина, начинает развиваться в пространстве между стенкой и мембраной клетки. Хотя паразит никогда не проходит через мембрану, она становится пористой и пропускает клеточные компоненты, служащие питательными веществами для паразита. Бделловибрион превращается в нить, длина которой в несколько раз превышает первоначальную, варьируя в зависимости от размера клетки-хозяина. Эта нить сегментируется затем на пропорциональное число клеток потомства, имеющих жгутики; весь процесс размножения занимает около 4 ч. К этому времени стенка клетки-хозяина подвергается дальнейшему разрушению, и потомство бделловибриона легко освобождается (рис. 28.2).

На поверхности твердой среды, покрытой газоном клеток-хозяев, клетки *Bdellovibrio* дают пятна лизиса, внешне сходные со стерильными пятнами, которые образуются при фаговой инфекции (рис. 28.3). Эта удивительная бактерия, открытая Столпом (Н. Stolp) только в 1962 г., действительно была выделена в ходе поиска фагов, активных в отношении пато-

Рис. 28.3. Макроскопически видимый лизис чувствительных бактерий, вызванный *Bdellovibrio*. А. Образование стерильных пятен на поверхности сплошного газона *Pseudomonas puti-*

da в чашке Петри. Б. Частичный лизис поверхностных колоний *Escherichia coli* на пластинке питательного агара, на которую была посеяна штрихом смесь клеток хозяина и парази-

та. [Stolp H., Starr M. P., *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic and bacteriolytic microorganism, *Antonie van Leeuwenhoek*, 29, 217 (1963).]



генных для растений бактерий. Столп обнаружил, что на некоторых чашках стерильные пятна появлялись лишь через несколько дней инкубации — намного позже, чем стерильные пятна, обусловленные инфекцией любым фагом. Было установлено, что материал, выделенный из этих поздно появившихся стерильных пятен, содержал большое число быстро движущихся вибрионоподобных клеток, которые и были первыми изолированными клетками *Bdellovibrio*. Родовое название этой бактерии происходит от латинского слова *bdellus*, что означает пиявка, так как первое наблюдение за ее поведением в световом микроскопе привело к выводу, что она остается прикрепленной к внешней поверхности своего хозяина до тех пор, пока не высосет досуха его содержимое.

Оказалось, что клетки *Bdellovibrio* составляют своеобразную группу грамотрицательных бактерий, характеризующихся очень небольшим размером (0,3—0,45 мкм в диаметре), наличием одетого чехлом жгутика (признак, объединяющий их с некоторыми вибрионами), а также тем, что они являются облигатными аэробами и облигатными паразитами, живущими на других грамотрицательных бактериях. Последнее свойство имеет ключевое таксономическое значение для этой группы, хотя в качестве редких вариантов могут возникать и независимые от хозяина штаммы.

При обследовании, проведенном с целью обнаружения организмов, образующих на газонах грамотрицательных бактерий поздно появляющиеся стерильные пятна, выяснилось,

что бделловибрионов можно выявить в самых разных природных материалах. Они были найдены в образцах почвы из многих частей света в количествах, варьирующих от 10^2 до 10^5 на грамм, а также в сточных водах и — в значительно меньших количествах — в пресноводных и морских водоемах. Большинство выделенных из природных источников штаммов образует близкородственную однородную группу, на что указывает способность ДНК этих штаммов гибридизоваться между собой. Такие штаммы были отнесены к виду *B. bacteriovorus*. На основе электрофореграмм ферментов, а также гомологии ДНК обнаружены две другие группы штаммов. Они отнесены к видам *B. stolpii* и *B. starrii*, названных так в честь Столпа и Старра (M. Starr) — двух пионеров в области изучения бделловибрионов.

Питание и физиология бделловибрионов исследованы на аксеничных культурах независимых от хозяина вариантов. Установлено, что они не способны к катаболизму углеводов, но обладают высокой протеолитической активностью и, по-видимому, используют пептиды и аминокислоты в качестве источников углерода и энергии. Бделловибрионы являются облигатными аэробами, у которых субстраты в процессе дыхания расщепляются через цикл трикарбоновых кислот. Зависимые от хозяина штаммы получают все свои питательные вещества от хозяина, а не из среды.

В гл. 9 было отмечено, что у большинства бактерий значение $Y_{ATФ}$ (выход сухой клеточной массы в граммах на 1 моль АТФ) равно примерно 10. У бделловибрионов значение $Y_{ATФ}$ колеблется от 20 до 30. Как было показано Риттенбергом (S. Rittenberg) и др., эта удивительно высокая эффективность частично обусловлена способностью клеток *Bdellovibrio* непосредственно ассимилировать получаемые от хозяина нуклеотиды с сохранением в них богатых энергией фосфатных связей. Они также способны ассимилировать жирные кислоты хозяина, прямо включая одни из них в липиды и превращая другие в характерные для бделловибрионов типы соединений.

Шило (M. Shilo) с сотрудниками обнаружили, что зависимые от хозяина бделловибрионы можно культивировать в свободной от хозяина среде с добавлением экстракта клеток-хозяев. В этих условиях развитие бделловибрионов можно легко остановить на любом этапе клеточного цикла путем добавления рибонуклеазы или путем промывания клеток. Эти наблюдения позволяют сделать предположение, что образуемый хозяином РНК-содержащий фактор действует на клетки *Bdellovibrio*, не проникая через клеточную мембрану, и что он играет регуляторную (а не пищевую) роль; вероятно, независимые от хозяина варианты бделловибрионов являются конститутивными мутантами, утратившими потребность в эк-

зогенном индукторе какой-то одной из существенных клеточных функций.

Приведенное описание жизненного цикла *Bdellovibrio* служит иллюстрацией того, что между понятиями хищник и вирулентный паразит существует весьма тонкое различие. В конечном счете это разграничение основывается на выживаемости хозяина в процессе нападения на него другого организма. Например, если бы можно было показать, что гибель хозяина наступает *до* перехода бделловибриона в фазу размножения, то их взаимоотношения лучше было бы охарактеризовать как взаимоотношения хищника и жертвы.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОСИМБИОНТЫ ПРОСТЕЙШИХ

Бактериальные эндосимбионты чрезвычайно широко распространены среди простейших; они описаны у амёб, жгутиконосцев, реснитчатых и споровиков. Ни один из них не поддается культивированию вне своего хозяина, однако бактериальная природа этих эндосимбионтов была убедительно доказана на основе их морфологии, способности к окрашиванию и способа клеточного деления. Одни из них размножаются в ядрах хозяина, а другие — в его цитоплазме.

В большинстве таких случаев вклад, вносимый бактерией в симбиоз, остается неизвестным. Однако в одном случае этот вклад очевиден: бактериальный эндосимбионт обеспечивает своего хозяина аминокислотами и другими факторами роста, в которых как в экзогенных питательных веществах нуждается большая часть простейших. Инфицированный хозяин *Crithidia oncopelti* (жгутиковое из сем. *Trypanosomatidae*) может развиваться в простой синтетической среде, содержащей в качестве источника углерода глюкозу, а в качестве факторов роста аденин, метионин и несколько витаминов. В отличие от этого организма другой вид *Crithidia* нуждается не только в указанных питательных веществах, но еще и в 10 аминокислотах (включая лизин), гемине и нескольких дополнительных витаминах. Радионизотопные исследования показали, что у *C. oncopelti* для биосинтеза лизина используется характерный для бактерий путь через диаминопимелиновую кислоту. Окончательное выяснение роли найденной у этого простейшего эндосимбиотической бактерии получено путем фракционирования клеток *Crithidia* и установления того факта, что декарбоксилаза диаминопимелиновой кислоты — последний фермент биосинтетического пути, ведущего к лизину, — локализована во фракции, состоящей из клеток эндосимбионта.

Вероятно, самым интересным и, несомненно, наиболее подробно изученным симбиозом с участием простейшего является симбиоз *Paramecium aurelia* и ее эндосимбионта *kappa*¹.

¹ От греческой буквы κ . — Прим. ред.

В своем первом из целой серии продолжавшихся свыше 20 лет исследований Зоннеборн (Т. М. Sonneborn) с сотрудниками показали, что большинство штаммов *P. aurelia* относится к двум основным классам: штаммам-«убийцам» и чувствительным штаммам. Первые выделяют токсичные частицы, к которым сами эти штаммы невосприимчивы, но которые являются летальными для чувствительных штаммов. Способность выделять токсичные частицы генетически контролируется цитоплазмой хозяина, а не его ядром; если при конъюгации, когда происходит обмен цитоплазмой, чувствительная клетка спаривается с клеткой-убийцей, то она сама превращается в клетку-убийцу.

Пытаясь идентифицировать генетический материал цитоплазмы, Приер (J. Greer) использовал для его инактивации рентгеновские лучи. Полученные данные неожиданно привели к выводу о том, что расчетный размер мишени для данного генетического элемента настолько велик, что он должен быть виден в световой микроскоп. Проведенные затем опыты по окрашиванию препаратов специфичным для ДНК красителем Фёльгена показали, что ответственный за выделение токсичных частиц генетический элемент представляет собой бактериеподобный эндосимбионт, размножающийся путем бинарного деления в цитоплазме парамеции.

Этот эндосимбионт, названный каппа, обладает морфологическими и химическими свойствами мелкой бактерии и может быть устранен из организма хозяина под действием ряда физических и химических агентов, в том числе многих антибиотиков. Такая потеря необратима, однако хозяин продолжает нормально развиваться без эндосимбионта. Каппа может быть перенесена в чувствительные парамеции из экстракта парамеций-убийц, но до сих пор ее не удалось культивировать вне организма хозяина.

Каппа содержит ДНК и может претерпевать мутации, включая мутацию устойчивости к антибиотикам. Ее размножение зависит от присутствия в ядре хозяина особого гена, обозначенного геном *K*. *Paramecium aurelia* — диплоидный организм; ген *K* способен мутировать в рецессивный аллель *k*, и поэтому клетки могут иметь генотипы *KK*, *Kk* или *kk*. Если при скрещивании двух клеток-убийц с генотипом *Kk* образуется сегрегант *kk*, то каппа не может далее размножаться и разбавляется в процессе последующих делений клетки-хозяина с генотипом *kk*. В конечном счете клетка *kk* дает начало клону чувствительных парамеций.

Клетки, инфицированные каппа, содержат в своей цитоплазме несколько сотен или тысяч этих эндосимбионтов (рис. 28.4). При наблюдении в фазово-контрастном микроскопе препаратов очищенных клеток каппа в некоторых из этих клеток обнаруживаются преломляющие (R) тельца (рис. 28.5).

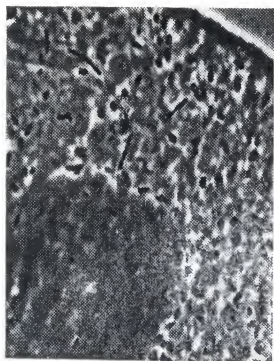


Рис. 28.4. Окрашенный препарат целой клетки *Paramecium*, содержащей в цитоплазме симбионтов каппа (темные палочковидные тела). Темная область — ядро хозяина (фазовый контраст в светлом поле, $\times 540$). [Beale G. H., Jurand A., Preer J. B., Jr., The classes of endosymbionts of *Paramecium aurelia*, J. Cell. Sci., 5, 65 (1969).]

Рис. 28.5. А. Нефиксированный препарат очищенных клеток каппа. Палочки с равномерной окраской — неблестящие клетки каппа; палочки, содержащие светлое сферическое преломляющее тело, — блестящие клетки каппа (фазовый контраст в темном поле, $\times 4700$). (Фотография предоставлена J. Preer.) Б. Электронная микрофотография продольного среза через блестя-

щую клетку каппа. Обратите внимание на темноокрашенные сферические фагоподобные структуры внутри спирального преломляющего тела. Преломляющее тело окружено чехлом в виде выступающей за его пределы тонкой мембраны ($\times 32\ 100$). [Preer J. R., Jr., Jurand A., The relation between virus-like particles and R bodies of *Paramecium aurelia*, Genet. Res., 12, 331 (1968).]



а те клетки, в которых эти тела отсутствуют, — неблестящими.

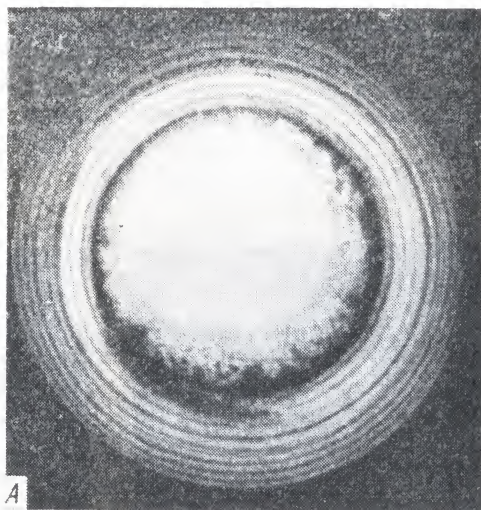
Приер показал, что выделяемые в среду токсичные частицы представляют собой интактные блестящие клетки каппа, потерявшие способность к дальнейшему размножению. При фракционировании блестящих клеток токсичность оказывается связанной с тельцами R, которые выглядят в электронном микроскопе как плотно скрученные белковые ленты (рис. 28.6). Неизвестно, является ли токсином само тельце R или другой связанный с ним белок. Последнее кажется более вероятным, если учесть тот факт, что тельце R очень устойчиво, тогда как токсин весьма лабилен.

Установлено, что токсин, как и тельце R клетки каппа, образуется вследствие индукции дефектного профага, присутствующего в геноме всех клеток каппа. Обнаружено, что

Рис. 28.6. Электронная микрофотография тельца R клетки каппа, негативно окрашенного фосфовольфрамовой кислотой. А. Интактное, свер-

нутое тельце R ($\times 119\,000$). [Preer J. R. Jr., Preer L. B., Jurand A., Kappa and other endosymbionts in *Paramecium aurelia*, Bacteriol.

Rev., 38, 113 (1974).] Б. Раскрученное тельце R ($\times 33\,800$). [Preer J. R., Jr. et al., The classis of kappa in *Paramecium aurelia*, J. Cell Sci., 11, 581 (1972).]



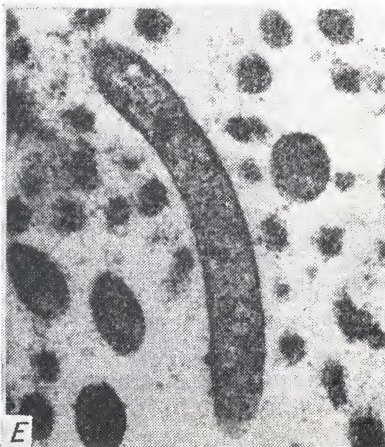
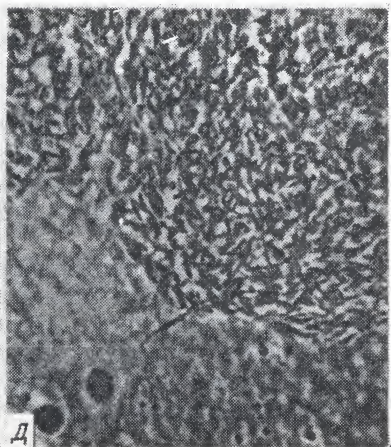
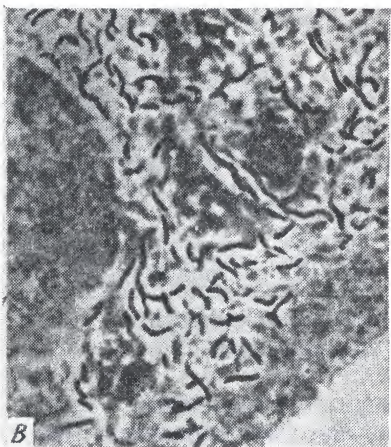
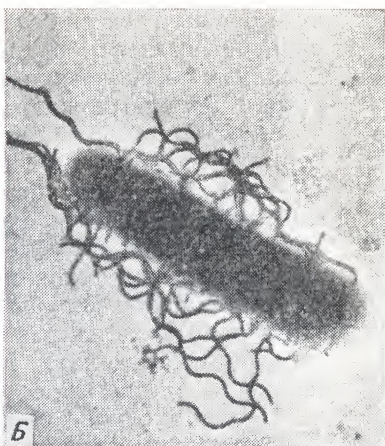
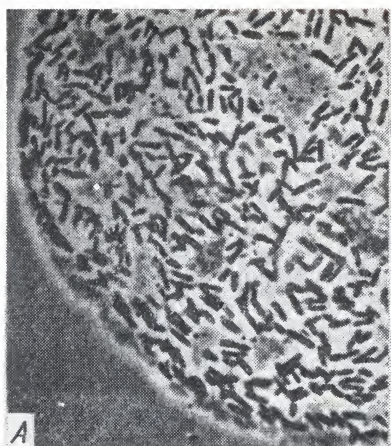
клетки, в которых был индуцирован профаг, содержат головки и отростки фага, а также кольцевые молекулы ДНК; они не лизируются, но прекращают дальнейшее размножение. Головки фага всегда находятся в тесном контакте с тельцами R, и весьма вероятно, что тельца R и токсин кодируются фаговыми генами.

У выделенных из природных источников штаммов-убийц *Paramecium aurelia* в дополнение к клеткам каппа обнаружен ряд других бактериальных эндосимбионтов. Они также

Рис. 28.7. Некоторые типичные бактериальные эндосимбионты *Paramecium aurelia*. А. Окрашенный препарат целой клетки-хозяина, показывающий присутствие в цитоплазме эндосимбионтов лямбда (фазовый контраст в светлом поле, $\times 750$). Б. Электронная микрофотография выделенной клетки лямбда, негативно окрашенной для выявления жгутиков ($\times 11\,100$). В.

Окрашенный препарат целой клетки-хозяина, показывающий присутствие в цитоплазме эндосимбионтов сигма (фазовый контраст в светлом поле, $\times 729$). Г. Электронная микрофотография среза через цитоплазму клетки-хозяина, показывающая эндосимбионта сигма и его жгутики ($\times 22\,000$). Д. Окрашенный препарат целой клетки-хозяина, показывающий присутствие в мак-

ронуклеусе эндосимбионтов альфа (фазовый контраст в светлом поле, $\times 870$). Е. Электронная микрофотография ультратонкого среза макронуклеуса клетки-хозяина, показывающая эндосимбионта альфа ($\times 27\,000$). [Beale G. H., Jurand A., Preer J. B., Jr., The classes of endosymbionts of *Paramecium aurelia*, J. Cell Sci., 5, 65 (1969).]



обозначены греческими буквами. Показано, что один из них, названный *альфа*, представляет собой длинный спиральный организм со скользящим движением, очень похожий на *Cytophaga*; он размножается главным образом в ядре своего хозяина. Остальные эндосимбионты являются типичными бактериями, которые составляют три новых рода: род *Caedobacter*, объединяющий безжгутиковые организмы и включающий эндосимбионтов каппа, мю, гамма и ню; род *Lycticum*, объединяющий крупные организмы с большим числом перитрихальных жгутиков и включающий эндосимбионтов лямбда и сигма; род *Tectobacter*, объединяющий организмы с редкими перитрихальными жгутиками и включающий только эндосимбионтов дельта. Некоторые представители этих групп показаны на рис. 28.7.

В одном случае было установлено, что в основе взаимовыгодной связи между *Paramecium* и одним из ее бактериальных эндосимбионтов лежит образование симбионтом необходимой для его хозяина фоллевой кислоты. Однако равновесие между хозяином и эндосимбионтом является неустойчивым и может сдвигаться в пользу либо одного, либо другого. Так, если носители эндосимбионтов предварительно культивируются в аксеничной среде, то часто происходит несбалансированное ускорение размножения эндосимбионта, приводящее к гибели хозяина. Напротив, если устанавливается высокая скорость размножения культуры простейшего, то это может привести к потере более медленно развивающегося эндосимбионта вследствие его разбавления.

СИМБИОЗЫ МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ И МНОГОКЛЕТОЧНЫМИ ХОЗЯЕВАМИ

ЭКТОСИМБИОЗЫ ПРОСТЕЙШИХ С НАСЕКОМЫМИ: КИШЕЧНЫЕ ЖГУТИКОНОСЦЫ ТЕРМИТОВ И ТАРАКАНОВ, ПИТАЮЩИХСЯ ДРЕВЕСИНОЙ

Древесина деревьев, состоящая в основном из целлюлозы и лигнина, недоступна в качестве источника питания для большинства животных; животные, как правило, не обладают ферментами, необходимыми для расщепления этих полимеров. Тем не менее древесина составляет основную пищу многих видов насекомых благодаря их эктосимбиотической связи с микроорганизмами, способными переваривать целлюлозу и лигнин.

Как термиты, так и тараканы, которые произошли от общей предковой группы, включают некоторые виды, поедающие древесину. Все питающиеся древесиной виды обеих групп содержат в своем кишечнике огромное количество жгутиковых простейших, принадлежащих к отрядам *Poly-*
mastigina и *Hypermastigina*. Жгутиконосцы плотной массой

заполняют мешковидное расширение задней кишки насекомого; есть сообщения, согласно которым в некоторых случаях симбионты составляют свыше одной трети веса тела насекомого. Именно жгутиконосцы и осуществляют переваривание целлюлозы, так как сами по себе насекомые к этому не способны. В свою очередь жгутиконосцы служат хозяевами для внеклеточных спирохет (см. рис. 26.2) и внутриклеточных бактерий. Поэтому возможно, что некоторые, если не все, целлюлазы, выделяемые жгутиконосцами, производятся их внутриклеточными симбионтами¹.

В этих двух группах насекомых способы передачи жгутиковых симбионтов от одной генерации к другой различаются. Недавно вышедшие из яиц нимфы термитов поедают фекальные капельки, выделяемые взрослыми особями; эти капельки насыщены симбионтами, которые инфицируют молодое насекомое. Только что вылупившиеся нимфы тараканов поедают сухие фекальные остатки взрослых особей, содержащие большое количество цист жгутиконосцев, способных переносить высушивание. В кишечнике нимф цисты прорастают, восстанавливая симбиоз.

Одной из удивительных особенностей цикла передачи симбионтов у тараканов является то, что *цистообразование у жгутиконосцев регулируется гормонами насекомого*. Выход из яиц личинок у этого насекомого совпадает с пиком периода линьки, а образование цист у простейшего индуцируется гормоном линьки — *экдизоном*. Этот механизм обеспечивает выживание жгутиконосцев при высыхании фекальных остатков и возможность инфицирования ими выводящихся нимф.

Вслед за инцистированием жгутиконосцы вступают в половой цикл, причем каждая циста в результате деления ядра и цитоплазмы дает начало одной мужской и одной женской гаметам. В конечном счете они сливаются, образуя зиготу. В обширной серии исследований Кливленд (L. Cleveland) установил, что разнополость у жгутиконосцев индуцируется также экдизоном, но при значительно более низких концентрациях гормона, чем те, которые необходимы для индукции линьки насекомого. Адаптивное значение этой регуляции неясно. Возможно, что она отражает облигатное сопряжение гаметогенеза и инцистирования.

ЭНДОСИМБИОЗЫ ГРИБОВ И БАКТЕРИЙ С НАСЕКОМЫМИ

Микробные эндосимбиозы чрезвычайно широко распространены среди насекомых. Немецкий биолог Бухнер (Р. Buchner), который первым начал изучать симбиоз и занимался

¹ В кишечнике термита происходит также фиксация азота. Считают, что она осуществляется азотфиксирующими бактериями. Неизвестно, находятся ли они в кишечнике в свободном состоянии или в виде внутриклеточных симбионтов жгутиконосцев.

этим более полувека, установил чрезвычайно строгую корреляцию между пищей насекомых и присутствием у них симбионтов: симбионты никогда не обнаруживаются у насекомых, получающих полноценное питание, но они присутствуют у всех насекомых, которые во время своего развития имеют недостаточное питание. Так, ни у одного из хищных насекомых нет симбионтов, тогда как все насекомые, питающиеся кровью или соком растений, содержат симбионтов. Следовательно, основная функция симбионта состоит в обеспечении хозяина одним или несколькими ростовыми факторами, отсутствующими в пище насекомого.

Некоторые кажущиеся исключения лишь подтверждают это правило. Например, москиты не содержат симбионтов, хотя они сосут кровь. Однако кровью питаются лишь взрослые самки, а личинки и куколки имеют полноценный пищевой рацион, состоящий из микроорганизмов и органических остатков. Напротив, амбарный долгоносик, *Sitophilus granarius*, содержит симбионтов, хотя и питается богатым в пищевом отношении зерном. Это объясняется тем, что данный род унаследовал своих симбионтов от питавшихся древесной предков; такие организмы способны жить и размножаться в свободном от симбионтов состоянии при условии, если они снабжаются полноценным пищевым рационом. В отсутствие симбионтов выбор пищи у них строго ограничен.

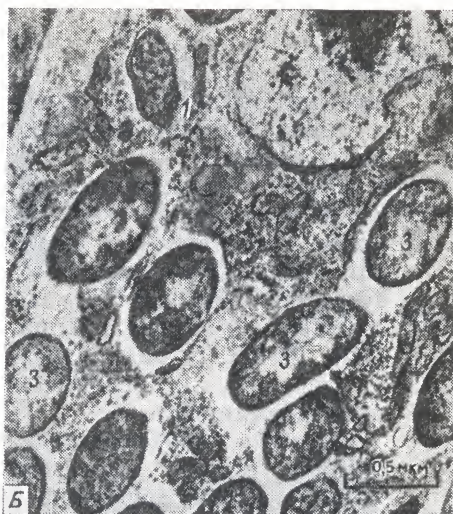
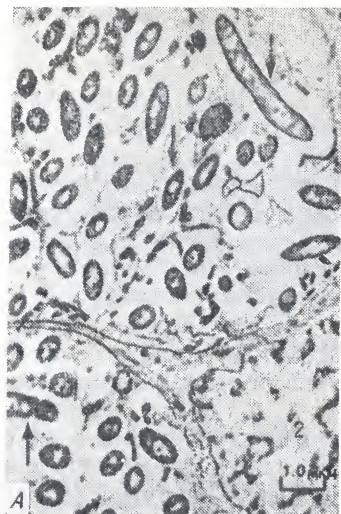
Микробные эндосимбионты. Микробные эндосимбионты насекомых включают как бактерии, так и дрожжи. Идентификация большинства из этих организмов осуществлялась только на основе их внешнего вида и способа размножения в клетках хозяина. Однако некоторые из них были успешно выделены и выращены в чистой культуре. Например, один из симбионтов поцелуйного клопа (*Rhodnius*) выделен и идентифицирован как актиномицет рода *Nocardia*. Другие изолированные симбионты насекомых оказались кориниформными бактериями или граммотрицательными палочками. Были также успешно выделены некоторые дрожжи, особенно из жуков-дровосеков (*Cerambycidae*) и жуков-точильщиков (*Anobiidae*). Хотя большинство насекомых являются моносимбиотическими, отнюдь не редко встречаются отдельные виды, предоставляющие убежище двум или нескольким различным микроорганизмам. Связь между насекомыми и их эндосимбионтами, по-видимому, высокоспецифична; видовая принадлежность насекомого часто может быть установлена на основе изучения его симбионтов.

Локализация эндосимбионтов. Микробные эндосимбионты поселяются внутри специализированных клеток насекомого (рис. 28.8), которые называются *мицетоцитами*, когда в них находятся дрожжи, и *бактериоцитами*, когда в них находятся бактерии. Некоторые авторы называют оба типа кле-

Рис. 28.8. Электронные микрофотографии ультратонких срезов мицетоцитов насекомого *Sitophilus granarius*. А. Малое увеличение; стрелки показывают бактериальных эндосимбионтов

($\times 3300$). Б. Сильное увеличение ($\times 19\,500$). 1 — митохондрии; 2 — ядро мицетоцита; 3 — ядерная область эндосимбиотической бактерии. [Grinyer I., Musgrave A. J., Ultrastructu-

re and peripheral membranes of the micetomal microorganisms of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera), J. Cell Sci., 1, 181 (1966).]



ток мицетоцитами, и мы также будем использовать этот термин в обоих случаях.

У некоторых насекомых мицетоциты случайным образом распределены в нормальных тканях, таких, как стенка средней кишки или *жировое тело* — рыхлая ткань, состоящая из скопления клеток, выстилающая полость тела насекомого. Однако у многих насекомых мицетоциты сосредоточены в специальных органах, называемых *мицетомами*, единственная функция которых состоит в том, что они служат убежищем для эндосимбионтов. Можно проследить целый ряд переходных форм между эктосимбиозом, когда симбионты развиваются в полости кишечника насекомого, и эндосимбиозом, когда они находятся в мицетомах. На рис. 28.9 схематически изображены основные части пищеварительного тракта насекомого. Рис. 28.10 иллюстрирует локализацию эндосимбионтов во внешних карманах, или *слепых выростах* кишечника. На примере нескольких видов жуков-точильщиков (рис. 28.11) показана эволюция слепых выростов, которые становятся все более и более независимыми от средней кишки. При наиболее примитивных формах эндосимбиоза симбионты размещаются как внеклеточно в полости кишечника, так и внутриклеточно в слепых выростах. У большинства более совер-

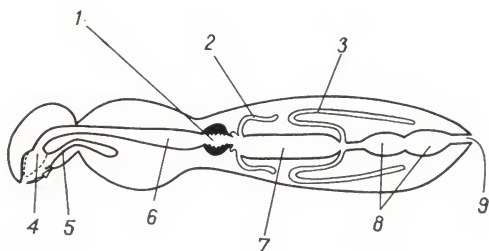


Рис. 28.9. Схематическое изображение пищеварительного тракта насекомого, 1 — преджелудок, 2 — слепая кишка; 3 — мальпигиев сосуд; 4 — рот; 5 — слюнный проток; 6 — передняя кишка; 7 — средняя кишка; 8 — задняя кишка; 9 — анус.

шенных организмов симбионты полностью изолированы, а слепые выросты эволюционировали в независимые органы, или мицетомы.

У некоторых насекомых мицетocyты локализованы в органах выделения — мальпигиевых сосудах. У определенных родов *Curculionidae* (семейство, включающее жуков-долгоносиков и жуков-слоников) два из шести мальпигиевых сосудов приобрели в этом отношении анатомическую специализацию и превратились в булавовидные мицетомы (рис. 28.12). У ряда других насекомых мицетомы отделены от кишечника и образуют по существу независимые структуры в полости тела.

Значение эндосимбиоза насекомых. Существенная роль, которую играют эндосимбионты в питании хозяина, может быть продемонстрирована путем искусственного устранения симбионтов и изучения поведения свободных от симбионтов насекомых. Устранение симбионтов осуществляли с помощью ряда остроумных методов. У насекомых, смазывающих свои яйца слоем симбионтов, поверхность яиц может быть простерилизована. У насекомых с четко выраженными и изолированными мицетомами, такими, как, например, желудочный диск вши *Pediculus*, мицетом может быть удален хирургическим путем. Некоторые насекомые могут быть освобождены от своих симбионтов в результате их нагревания при высокой температуре или использования антибиотиков. В одних случаях развитие освобожденных от симбионтов насекомых сильно замедляется, и они могут не достигать стадии взрослой особи (рис. 28.13). В других случаях основной эффект заключается в нарушении системы размножения: половые органы самки повреждаются или их образование полностью подавляется.

Во многих подобных экспериментах утрата симбионтов может быть полностью компенсирована путем снабжения насекомого витаминами, особенно витаминами группы В. Было также показано, что симбионты тараканов (сем. *Blattidae*) обеспечивают хозяина некоторыми незаменимыми аминокислотами. Включение в пищу молодых насекомых ^{14}C -глюкозы приводит к появлению меченых тирозина, фенилаланина,

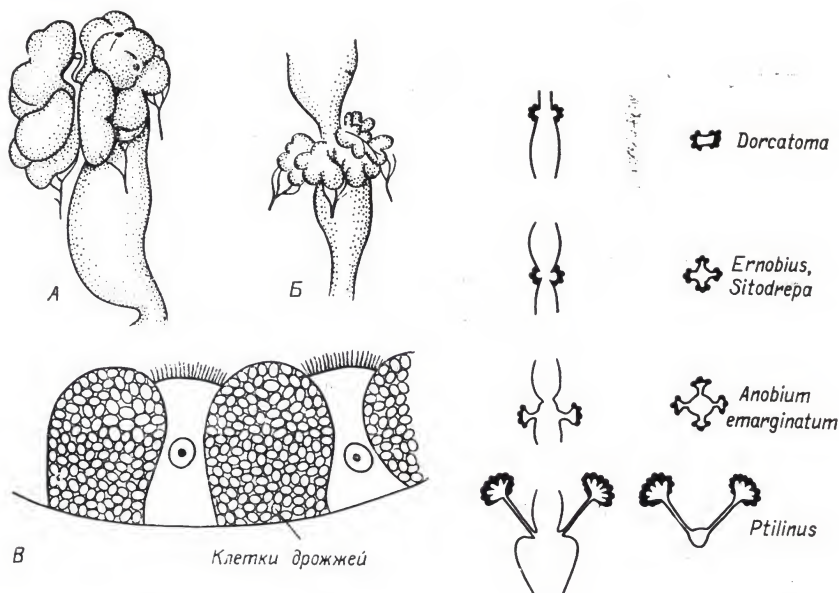


Рис. 28.10. Слепые выросты средней кишки жука-точильщика *Sitodrepa panicea*. А. Личинка. Б. Взрослое насекомое. В. Эпителий слепого выроста средней кишки личинки, в котором видны наполненные дрожжами мицетоциты, разделенные стерильными клетками с щеточной каемкой. (Согласно А. Коху.)

Рис. 28.11. Схема, показывающая, каким образом в процессе эволюции слепые выросты средней кишки жуков-точильщиков превратились в независимые органы. *Левая колонка*: продольные срезы; *правая колонка*: поперечные срезы. (Согласно А. Коху.)

свободных от симбионтов индивидуумов. Аналогичным образом инъекция меченного ^{35}S сульфата показала, что метионин и цистеин таракана синтезируются симбиотическими бактериями.

Бактериальные симбионты некоторых насекомых, по-видимому, оказывают помощь хозяину также и в расщеплении азотистых продуктов выделения (мочевой кислоты, мочевины и ксантина).

Эволюция симбиоза микроорганизмов с насекомыми. Эволюционная связь между специфическим симбиозом и пищей хозяина может быть четко прослежена у термитов. Ископаемые остатки показывают, что термиты и тараканы отделились от общего предка около 300 млн. лет назад. Наиболее примитивная группа термитов *Mastotermes* содержит эндосимбиотические бактерии, которые по типу и локализации идентичны бактериям, присутствующим у всех родов

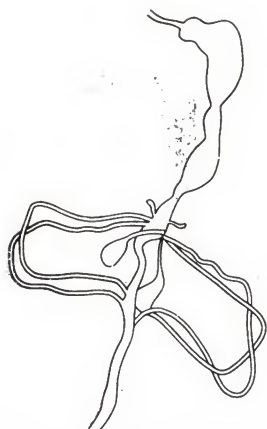
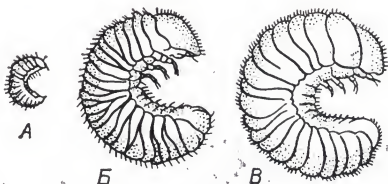


Рис. 28.12. Кишечник взрослого насекомого *Apion pisi*. Видно превращение двух из шести мальпигиевых сосудов в мицетомаы. (Согласно А. Коху.)

Рис. 28.13. Влияние утраты симбионта на развитие личинки *Sitodrepa panicea*. А. Свободная от симбионтов личинка на нормальном корме. Б. Свободная от симбионтов личинка на нормаль-

ном корме с добавлением 25% сухих дрожжей. В. Инфицированная симбионтами личинка на нормальном корме без добавок. (Согласно А. Коху.)



тараканов. В кишечнике у *Mastotermes* имеются также жгутиковые простейшие, которые переваривают целлюлозу и таким образом дают возможность своим хозяевам питаться древесиной. Однако все высшие термиты утратили эндосимбиотических бактерий и симбиотические функции у них выполняются жгутиковыми простейшими, обитающими в кишечнике.

Ферментативная активность симбиотических микроорганизмов (синтез факторов роста и переваривание целлюлозы) позволяет насекомым занимать новые экологические ниши. Способность насекомых к существованию за счет высасывания крови, сока растений или высверливания древесины полностью зависит от развития у них органов размещения симбионтов и механизмов передачи этих симбионтов от одной генерации к другой.

Микробные симбионты также претерпевают адаптивные эволюционные изменения. Такая адаптация часто осуществляется путем утраты способности к развитию в свободном состоянии. Эволюционные изменения выражаются также в специфичности, обнаруживаемой при инфицировании «чужими» симбионтами насекомых, освобожденных от своих симбионтов. Например, жук-точильщик *Sitodrepa* может быть вновь инфицирован либо его обычными симбиотическими дрожжами, либо чужими дрожжами. Первые проникают только в нормальные мицетоциты, тогда как вторые заселяют все эпителиальные клетки слепых отростков и средней кишки.

354 Кроме того, чужие дрожжи не передаются взрослым

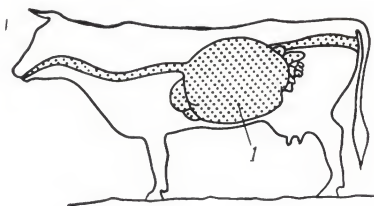


Рис. 28.14. Схема кишечного тракта коровы, показывающая расположение рубца. 1 — рубец

стадиям насекомых в процессе морфогенеза. Особенно интересно, что жуки, содержащие нормальных симбионтов, не могут быть инфицированы чужими дрожжами, которые легко заражают индивидуумов, освобожденных от симбионтов; по-видимому, нормальный симбионт придает своему хозяину невосприимчивость к инфекции родственными микроорганизмами — явление, которое часто наблюдается при симбиотических взаимоотношениях как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных.

СИМБИОЗ У ЖВАЧНЫХ

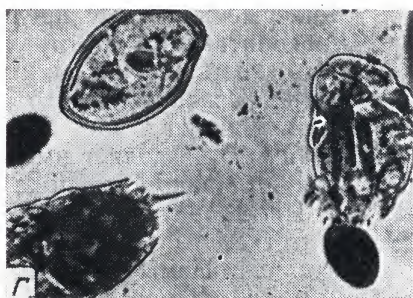
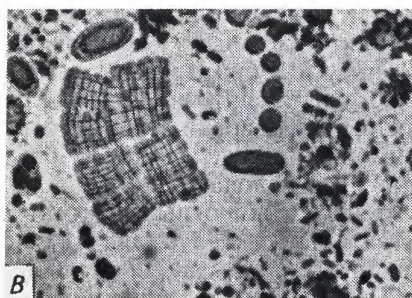
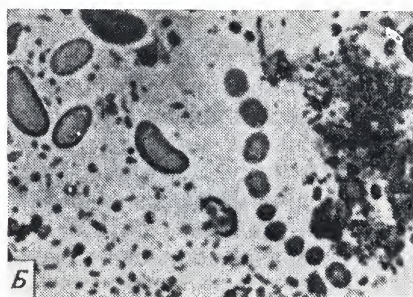
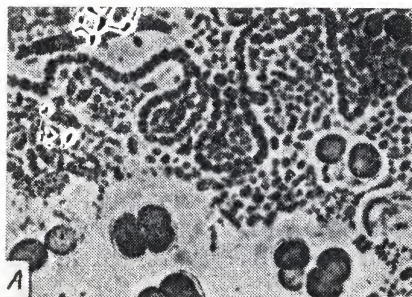
Жвачные животные представляют собой группу травоядных млекопитающих, в которую входят крупный рогатый скот, овцы, козы, верблюды и жирафы. Подобно другим млекопитающим, жвачные животные не могут синтезировать целлюлазы. Однако у них развился эктосимбиоз с микроорганизмами, что позволяет им использовать пищу, в которой основным источником углерода служит целлюлоза.

Пищеварительный тракт жвачных животных состоит не менее чем из четырех последовательных желудков. Два первых, называемых *рубецом* (рис. 28.14), представляют собой по существу обширные инкубационные камеры, буквально кишящие бактериями и простейшими. Рубец коровы — это мешок емкостью около 100 л. Пережеванная коровой растительная пища, смешанная с большим количеством слюны, поступает затем в рубец, где она быстро подвергается воздействию бактерий и простейших. Общая микробная популяция рубца огромна, а ее плотность достигает той же величины, что и плотность лабораторной культуры бактерий (10^{10} клеток на 1 мл). В рубце находится множество различных микроорганизмов (рис. 28.15). Однако их биохимическая активность во всех деталях еще не изучена. Тем не менее суммарный эффект этой активности очевиден: целлюлоза и другие сложные углеводы, присутствующие в поглощенном животным корме, расщепляются с образованием в конечном счете простых жирных кислот (уксусной, пропионовой и масляной) и газов (двуокиси углерода и метана). Жирные кислоты всасываются через стенки рубца, поступают в кровоток и, циркулируя с кровью, достигают различных тканей тела, где они используются в процессе дыхания. От образующихся в рубце газов корова избавляется путем частого отрыгивания. Мик-

Рис. 28.15. Некоторые микроорганизмы из рубца овцы. А, Б, В. Бактерии (микрофотографии в УФ-свете, $\times 732$). [Smiles J., Dobson

M. J., Direct ultraviolet and ultraviolet negative phase-contrast micrography of bacteria from the stomachs of the sheep, J. Roy. Micro. Soc., 75,

244 (1956).] Г. Ресничное простейшее ($\times 9$). (Фотография представлена Дж. Иди и А. Оксфордом.)



робная популяция рубца быстро растет, и микробные клетки переходят из рубца вместе с непереваренным растительным материалом в следующие отделы пищеварительного тракта коровы. В самом рубце пищеварительные ферменты не образуются, но в других отделах выделяются протеазы, которые разрушают и переваривают микробные клетки, когда они поступают сюда из рубца. Образующиеся в результате азотистые соединения и витамины используются животным. По этой причине потребности в соединениях азота у коров и других жвачных животных значительно проще, чем у остальных групп млекопитающих. В то время как человек или крыса нуждаются во многих так называемых незаменимых аминокислотах, которые должны содержаться в пище, жвачное животное может существовать, используя аммиак или мочевины, являющиеся у большинства млекопитающих продуктами выделения. Эти простые азотистые соединения превращаются популяцией микроорганизмов в рубце в белки, входящие в состав самих микроорганизмов.

В ходе эволюции жвачных животных происходили как структурные, так и функциональные модификации их желудочно-кишечного тракта. Основное структурное изменение заключается в развитии сложного желудка: его самые большие отделения являются по существу ферментационными камерами. Функциональные модификации, которым подверглись жвачные, еще более глубоки. Во-первых, их слюнные железы не выделяют ферментов, и слюна является фактически разбавленным раствором солей (в основном бикарбоната и фосфата натрия), обеспечивающим основную питательную среду, пригодную для развития микроорганизмов рубца. Во-вторых, низшие жирные кислоты в значительной степени заменили сахара в качестве первичного энергетического субстрата. Это в свою очередь привело к изменению в составе ферментов почти всех тканей тела, в результате чего жирные кислоты расщепляются здесь в процессе дыхания гораздо быстрее, чем в тканях нежвачных животных. Наконец, источник аминокислот и витаминов у жвачных животных в значительной степени стал внутренним (микроорганизмы вместо получаемых извне пищевых веществ).

Для микроорганизмов, обитающих в рубце, такое положение также создает преимущества: во-первых, они обеспечиваются средой, которая в изобилии содержит сбраживаемые углеводы и хорошо забуферена слюной; во-вторых, они живут при постоянной благоприятной температуре — температуре тела животного. Хотя каждая отдельная микробная клетка в конце концов становится жертвой протеолитических ферментов в нижних отделах пищеварительного тракта, однако для вида в целом рубец представляет безопасную и постоянную экологическую нишу.

Симбиотическая ассоциация, образовавшаяся в рубце, является тонко сбалансированным равновесием, легко нарушаемым при самых незначительных изменениях окружающей среды. Основной недостаток этого симбиоза заключается в его чисто механическом несовершенстве. В рубце коровы образуется за день около 60—80 л газа, а так как общий объем рубца составляет только 100 л, для выхода накапливающихся газов необходимо постоянное отрыгивание. По не вполне понятным причинам некоторые виды пищи вызывают вспенивание содержимого рубца, и тогда механизм отрыгивания у коровы не срабатывает должным образом. В результате возникает такой симптом, как «вздутие живота» (т. е. растяжение рубца задержанными газами); если вовремя не применить лечения, то в конечном счете это приводит к смертельному исходу.

Метаболическая активность бактерий рубца. Так как окислительно-восстановительный потенциал (E_0') содержимого рубца сохраняется на уровне $-0,35$ В, все микробиологические процессы, происходящие в рубце, являются анаэроб-

ными. Когда животное поедает корм, в рубец поступает постоянный поток тонкоизмельченных растительных материалов, смешанных со слюной. Эти растительные материалы состоят главным образом из целлюлозы, пектина и крахмала, а также некоторого количества белка и липидов. Первая стадия переваривания пищи в рубце заключается в расщеплении таких полимерных макромолекул. Большое внимание было уделено идентификации микроорганизмов, ответственных за расщепление целлюлозы, так как оно является главным пищеварительным процессом, происходящим в рубце. Обнаружено, что от 1 до 5% бактериальных клеток, находящихся в рубце, обладают целлюлазной активностью; они образуют внеклеточный фермент, гидролизующий целлюлозу до конечного продукта ее расщепления — глюкозы.

Бактерии, переваривающие целлюлозу, подобно другим главным микроорганизмам рубца, являются облигатными анаэробами. Выделено и описано несколько различных видов расщепляющих целлюлозу бактерий: *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavofaciens*, *R. albus* и *Butyrovibrio fibrisolvens*. *B. succinogenes* — грамотрицательный организм, который, вероятно, должен быть отнесен к миксобактериям, поскольку у него обнаруживается скользящее движение. Он образует янтарную и в меньшем количестве уксусную кислоты. *Ruminococcus* выделяет в основном янтарную, а *Butyrovibrio* — масляную кислоты.

Однако значительная часть бактериальной популяции не обладает целлюлазной активностью. Эти организмы быстро используют глюкозу и целлобиозу, образуемые целлюлозоразлагающими видами. Высокая эффективность поглощения ими этих молекул, вероятно, объясняется их преобладанием над целлюлозоразлагающими формами. Кроме того, многие из бактерий рубца (включая и некоторые целлюлозоразлагающие виды) способны переваривать крахмал, пектин, белки и липиды. Фактически из всех проглоченных животным растительных материалов лишь один лигнин не переваривается микрофлорой рубца.

Продукты переваривания полисахаридов, белков и липидов сбраживаются бактериями рубца. Такая метаболическая активность ведет к накоплению в рубце газов — CO_2 и метана — и жирных кислот — уксусной, пропионовой и масляной. Однако когда преобладающие типы бактерий рубца были выделены и исследованы в чистых культурах, то оказалось, что кроме выше перечисленных продуктов они образуют также водород и большие количества муравьиной, молочной и янтарной кислот. Путем введения в содержимое рубца этих соединений, меченных радиоактивными изотопами, удалось установить причины, по которым они не накапливаются в рубце. Выяснилось, что с помощью организма *Methanobacterium ruminantium* водород количественно соединяется с дву-

окисью углерода и образует метан; лактат сбраживается до ацетата и небольших количеств пропионата и бутирата таким организмом, как *Peptostreptococcus elsdenii*, а формат превращается сначала в двуокись углерода и водород с помощью различных бактерий, а затем — в метан в результате активности *M. ruminantium*. Наконец, *Veillonella alcalescens* и другие бактерии быстро декарбоксилируют сукцинат с образованием пропионата.

Суммарным результатом деятельности всех этих бактерий является образование двуокиси углерода, метана, а также уксусной, пропионовой и масляной кислот в удивительно постоянных соотношениях. Двуокись углерода составляет 60—70% выделяющихся газообразных продуктов; остальная часть представляет собой метан; на долю уксусной кислоты приходится 47—60%, пропионовой кислоты — 18—23%, масляной кислоты — 19—29% всех жирных кислот.

Простейшие рубца. Простейшие были обнаружены в содержимом рубца с помощью микроскопа еще в 1843 г. Однако прошло почти 100 лет, прежде чем они были успешно выделены и выращены *in vitro*. В настоящее время удается культивировать представителей нескольких родов, в основном относящихся к малоресничным (*Diplodinium*, *Entodinium*, *Epidinium*, *Metadinium* и *Ophryoscolex*), а также к равноресничным (*Isotricha* и *Dasytricha*) инфузориям. К сожалению, попытки выращивать этих простейших в аксеничной (не содержащей бактерий) культуре до сих пор не удалось.

Все подобные культуры до последнего времени были загрязнены как внутриклеточными, так и внеклеточными бактериями. Поэтому из опубликованных данных, полученных в ферментативных и метаболических экспериментах, нельзя сделать окончательных выводов. Тем не менее на основании опытов, в которых простейшие поддерживались в изолированном состоянии в течение длительных промежутков времени в присутствии высоких концентраций бактерицидных антибиотиков, можно прийти к некоторым предварительным заключениям. Результаты таких опытов позволяют предположить, что виды *Diplodinium* и *Metadinium* участвуют в расщеплении целлюлозы, а виды *Entodinium* и *Epidinium* — в расщеплении крахмала. Многие из этих простейших являются активными хищниками в отношении бактерий рубца.

ЭКОСИМБИОЗЫ МИКРООРГАНИЗМОВ С ПТИЦАМИ: МЕДОВЕДЫ

В Африке и Индии обитает группа птиц — медоведов, или медоуказчиков, относящихся к роду *Indicator*. Это название точно описывает их поведение: они в буквальном смысле служат проводниками барсукам, а также людям к гнездам диких пчел, где они ожидают, пока их спутники взломают улей.

Когда барсук (или человек) уходит, медоуказчик приступает к поеданию остатков вскрытых сот.

Поведение этих птиц вызвало еще большее удивление, когда было установлено, что они не обладают ферментами для переваривания пчелиного воска. Оказалось, что в их кишечнике присутствуют два микроорганизма, осуществляющих расщепление воска: бактерия *Micrococcus cerolyticus* и дрожжи *Candida albicans*. Микрококк представляет собой высокоспециализированный симбионт, зависящий от фактора роста, который образуется в тонком кишечнике медоуказчика.

ЭКТОСИМБИОЗЫ МИКРООРГАНИЗМОВ
С МЛЕКОПИТАЮЩИМИ: «НОРМАЛЬНАЯ ФЛОРА»
ЧЕЛОВЕКА

Как кожа, так и слизистые оболочки человеческого тела непосредственно контактируют с внешней средой; вскоре после рождения ребенка эти поверхности заселяются характерной микрофлорой. Кожа загрязняется во время прохождения плода через родовые пути; слизистые оболочки могут быть стерильными в момент рождения, но через несколько часов они также загрязняются. Из многих микроорганизмов, попадающих на все эти поверхности, приживаются только те, которые наиболее приспособлены для развития в таких условиях. Они и составляют «нормальную флору» человека, которая отличается удивительным постоянством. Бактерии нормальной флоры не вызывают заболеваний, если не происходит их случайного внедрения в обычно защищенные области человеческого тела или не наступают физиологические изменения в организме хозяина. Например, радикальная перемена питания или вирусная инфекция могут привести к созданию таких условий внутри организма, что представитель нормальной бактериальной флоры становится патогенным.

Каждый участок тела обеспечивает особую экологическую нишу, для которой отбирается характерная флора. Например, в число бактерий, населяющих кожу, входят главным образом коринебактерии, микрококки, негемолитические стрептококки и микобактерии. На влажных участках кожи обитают дрожжи и другие грибы. Кожная флора возникает благодаря условиям питания и антибактериальным агентам, таким, как жирные кислоты, выделяемые кожей. Микроорганизмы кожной флоры настолько прочно закрепляются в потовых и сальных железах и в волосяных фолликулах, что никакое мытье или трение щеткой не может полностью их удалить.

Горло и полость рта населяют разнообразные микроорганизмы, в том числе представители большинства обычных групп эубактерий. Нормальными обитателями горла являются грамположительные кокки, к которым относятся микро-

кокки, пневмококки и *Streptococcus salivarius*. Грамотрицательные кокки представлены аэробным родом *Neisseria* и анаэробным родом *Veillonella*. Ротовая полость и горло населены также большим количеством грамположительных и грамотрицательных палочек. К первым относятся главным образом лактобациллы и коринебактерии, тогда как последние включают представителей родов *Bacteroides* и *Spirillum*. Спирохеты (*Treponema dentium*), дрожжи (*Candida albicans*) и актиномицеты (*Actinomyces israelii*) также являются обычными обитателями полости рта. Все эти организмы, как правило, безвредны, но при повреждении слизистых оболочек многие из них могут внедряться в ткани тела и вызывать то или иное заболевание.

Организмы того же типа населяют носоглотку; они способны, по крайней мере потенциально, проникать и в легкие. Однако ряд защитных механизмов предохраняет трахею и бронхи от попадания в них живых бактерий. Во-первых, большинство бактерий прилипает к слизистой оболочке носоглотки и не может свободно продвигаться к легким, так как реснитчатые клетки эпителия, выстилающие трахею, постоянно гонят слизь вверх. Во-вторых, легкие — это место чрезвычайно активного фагоцитоза — механизма, посредством которого инородные частицы захватываются и разрушаются особыми амебовидными клетками.

Условия в желудке и тонком кишечнике не благоприятствуют развитию бактерий. Однако толстый кишечник населен чрезвычайно обильной и постоянной микрофлорой. Природа этой микрофлоры изменяется в зависимости от питания и возраста человека. Например, у грудных младенцев в кишечной микрофлоре всегда преобладает *Bifidobacterium* — организм, обычно не встречающийся в других местах. Он исчезает вскоре после отнятия детей от груди.

В кишечном тракте взрослых преобладающими бактериями являются некоторые виды *Bacteroides*, *Escherichia coli* и *Streptococcus faecalis*. Организмы рода *Bacteroides* — облигатно анаэробные, неподвижные грамотрицательные палочки; они являются наиболее характерными бактериями кишечного тракта млекопитающих и редко встречаются где-либо еще. Их число в человеческих фекалиях превышает 10^9 клеток на 1 г, тогда как плотность *E. coli* редко превышает 10^8 клеток на 1 г фекальной массы. Представители других родов бактерий, например зеленящие стрептококки и микрострептококки, присутствуют в кишечнике в меньших количествах. Дрожжи представлены двумя родами: *Candida* и *Torulopsis*, а простейшие — тремя: *Balantidium* (реснитчатое, найденное только у человека), *Entamoeba* и *Trichomonas*. Соотношение микробов разных типов в основном зависит от режима питания. Сильные изменения в кишечной микрофлоре может вы-

зывать пероральное применение в лечебных целях таких лекарственных препаратов, как антибиотики или сульфамиды.

Основными бактериями влагалища являются лактобациллы, которые поддерживают низкую величину рН благодаря своей способности к брожению. Кислая среда препятствует поселению здесь других форм микробов. Если число лактобацилл влагалища снижается в результате химиотерапевтического применения антибактериальных агентов или использования пероральных контрацептивов, то обычно наступает инфицирование влагалища бактериями и дрожжами.

В современной клинической практике наблюдается много серьезных инфекций, вызываемых бактериями, которые в норме безвредны для организма-хозяина. Вероятно, наиболее общим источником таких «эндогенных инфекций» служит содержимое кишечника, в котором обычно находится 10^{10} — 10^{11} бактерий на 1 г кала. При заболеваниях, подавляющих защитные механизмы хозяина, или в условиях, когда тот же эффект вызван применением лекарственных препаратов, бактерии, обычно находящиеся в кишечнике, внедряются в кровоток. К числу болезней, повреждающих защитные механизмы хозяина, относятся лейкозы, вызывающие резкое снижение количества циркулирующих в крови лейкоцитов, и множественная миелома, при которой происходит злокачественная пролиферация антителообразующих клеток. Такие лекарственные вещества, как кортизон, также могут увеличивать чувствительность организма к инвазии нормальной кишечной флоры.

Нормальная флора млекопитающих представляет собой еще один пример симбиотических взаимоотношений, которые могут переходить от мутуализма к паразитизму и обратно. В условиях, не допускающих инвазию организмов, составляющих нормальную микрофлору млекопитающего, они приносят пользу, так как предупреждают развитие вирулентных патогенных организмов, с которыми часто контактирует их хозяин.

БЕЗМИКРОБНЫЕ (ГНОТОБИОТИЧЕСКИЕ) ЖИВОТНЫЕ

Путем использования сложного оборудования и совершенных методов удастся извлекать из матки с помощью кесарева сечения безмикробных животных и выращивать их в безмикробных условиях. Спариваясь в таких условиях, взрослые животные приносят затем безмикробных детенышей. Таким способом можно поддерживать колонии безмикробных животных.

Камеры, в которых получают и выращивают этих животных, оборудованы так, чтобы предотвратить попадание в них грибов и бактерий. Это позволяет изучать значение нормальной флоры для роста и развития хозяина, а также устойчи-

вость последнего к инфицированию вирулентными патогенными организмами.

Развитие безмикробного животного отклоняется от нормы в некоторых отношениях. У него значительно увеличена слепая кишка, а лимфатическая система развита слабо; безмикробное животное образует значительно меньше иммуноглобулина, чем нормальное животное.

При сравнении нормальных и безмикробных животных не было обнаружено какого-либо влияния нормальной микрофлоры на пищевые потребности хозяина. Однако четко выраженные различия наблюдались в *устойчивости и чувствительности хозяина к инфекционным болезням*. Например, в отличие от контрольных животных у безмикробных крыс не развивается кариес зубов. Однако если безмикробных крыс инфицировать стрептококками, то у них появляются полости в зубах. Еще более сложная роль нормальной микрофлоры в развитии заболевания обнаруживается в случае инфицирования животного патогенным простейшим *Entamoeba histolytica* (возбудителем амёбной дизентерии). Этот организм не может вызывать болезнь у безмикробных морских свинок, но вызывает ее, если животное сначала инфицируется *Escherichia coli* или *Enterobacter aerogenes*. Таким образом, типичные для нормальной флоры организмы усиливают вирулентность патогенного организма, который сам по себе не может выживать в кишечнике.

Вместе с тем присутствие нормальной микрофлоры предохраняет хозяина от некоторых инфекционных болезней. Например, у нормальных крыс в раннем возрасте развивается устойчивость к спорам *Bacillus anthracis*; число спор в дозе, необходимой для гибели в данном эксперименте 50% животных, очень быстро возрастает после рождения детеныша от 10^4 до 10^9 . У безмикробных крыс подобная устойчивость вообще не развивается. Таким образом, она может быть отнесена за счет присутствия нормальной микрофлоры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Buchner P., 1965, Endosymbiosis of Animals with Plant Microorganisms, New York, Wiley.
Heneghan J. B., (ed.) (1973), Germ-Free Research (Biological Effects of Gnotobiotic Environments), New York, Academic Press.
Hungate R. E., 1966, The Rumen and Its Microbes, New York, Academic Press.
Rosebury T., 1962, Microorganisms Indigenous to Man, New York, McGraw-Hill.
Skinner F. A., Carr J. A., (ed.) (1974), The Normal Microbial Flora of Man, New York, Academic Press.

Обзоры

- Gordon H. A., Pestli L., (1971), The Gnotobiotic Animal as a Tool in the Study of Host-Microbial Relationships, Bacter. Rev., 35, 390.

- Preer J. R., Preer L. B., Jurand A. (1974), Kappa and Other Endosymbionts in *Paramecium aurelia*, Bact. Rev., **38**, 113.
- Starr M. P., Huang J. C.-C. (1972), Physiology of the Bdellovibrios, Advan. Microbial Physiol., **8**, 215.
- Starr M. P., Seidler R. J. (1971), The Bdellovibrios, Ann. Rev. Microbiol., **25**, 649.
- Stolp H. (1973), The Bdellovibrios: Bacterial Parasites of Bacteria, Ann. Rev. Phytopathology, **11**, 53.

Оригинальные статьи

- Bryant M. P. (1970), Normal Flora-Rumen Bacteria, Am. J. Clin. Nutrition, **23**, 1440.
- Horowitz A. T., Kessel M., Shilo M. (1974), Growth Cycle of Predacious Bdellovibrios in a Host-Free Extract System and Some Properties of the Host Extract, J. Bacteriol., **117**, 270.
- Rittenberg S. C., Hespell R. B., (1975), Energy Efficiency of Intraperiplasmic Growth of *Bdellovibrio bacteriovorus*. J. Bacteriol., **121**, 1158.

29 ПАТОГЕННОСТЬ МИКРОБОВ

Термин *патогенность* означает способность паразита вызывать заболевание. Патогенность — важный в таксономическом отношении признак, поскольку он является свойством вида; так, бактерии вида *Corynebacterium diphtheriae* считаются патогенными для человека. Однако отдельные штаммы бактерий данного вида могут сильно различаться по степени патогенности. Степень патогенности называется *вирулентностью*. В соответствии с этим вирулентность — признак штамма, а не вида; можно говорить о высоковирулентном, низковирулентном и даже об авирулентном штамме *C. diphtheriae*.

Вирулентность какого-либо штамма данного патогенного вида определяется двумя факторами: *инвазивностью*, т. е. способностью размножаться в организме хозяина, и *токсигенностью*, т. е. способностью образовывать *токсины* — вещества, повреждающие ткани хозяина. Особенность бактериальных токсинов состоит в том, что они могут повреждать или убивать нормальные клетки организма-хозяина. Однако некоторые виды патогенных микроорганизмов повреждают организм хозяина (позвоночного) с помощью более косвенного механизма, который вступает в действие лишь при условии предварительного контакта с тем же возбудителем. Это явление называется *повышенной чувствительностью*, или *аллергией*, и в нем участвует иммунная реакция чувствительного хозяина на компонент клетки паразита, не токсичный для нормального хозяина.

Вклад инвазивности микроорганизма в его повреждающее действие на макроорганизм может быть самым разнообразным. Так, некоторые возбудители настолько токсигенны, что даже сугубо местная инфекция приводит к образованию и диффузии в организме хозяина такого количества токсина, которое оказывается смертельным. Классический пример заболевания данного типа — дифтерия; возбудитель *Corynebacterium diphtheriae* размножается в ткани глотки и образует диффундирующий токсин, который поражает практически все ткани организма. Характерным примером другого крайнего случая служат те микроорганизмы, которые оказывают свое повреждающее действие лишь при условии интенсивного размножения во многих тканях. К таким заболеваниям относится сибирская язва; в завершающей фазе болезни ее возбудитель *Bacillus anthracis* обнаруживается в крови больных в огромном количестве.

Микробы могут передаваться от одной особи к другой; проникновение болезнетворного агента в организм хозяина

называется *инфекцией*; если при этом в организме возникает патологический процесс, то говорят об *инфекционном заболевании*. Болезнетворные микробы проникают в организм хозяина различными путями: с пищей или водой, во взвешенных в воздухе каплях жидкости, путем прямого контакта с зараженной особью, через укус животного или при загрязнении раны. Неповрежденная кожа — непреодолимый барьер для микробов. Иное дело — слизистые; вирулентные микроорганизмы легко проникают через них, поэтому все микробные болезни (кроме тех, которые передаются через укус животного или при загрязнении ран) начинаются с поражения слизистых.

Способность патогенных микробов развиваться в организме хозяина зависит от соотношения между факторами, способствующими и препятствующими росту этого патогена. Факторы, способствующие росту, — питательные вещества, необходимые микроорганизму; к факторам, подавляющим рост, относится ряд клеточных и гуморальных защитных механизмов хозяина. Разнообразие этих факторов у различных видов животных и в различных тканях животного данного вида определяет специфичность каждого патогенного микроорганизма по отношению к хозяину и ткани.

Существуют три типа инфекции. Некоторые микроорганизмы размножаются только на поверхности эпителия слизистой; другие проникают в эпителиальные клетки и размножаются в них; третьи проходят через эпителий и попадают в глубокие ткани и далее в кровеносную и лимфатическую системы. В следующих разделах мы обсудим эти три типа инфекции, обращая внимание в каждом случае на защитные барьеры хозяина, которые должен преодолеть патогенный микроорганизм. Но прежде всего мы рассмотрим токсины, с помощью которых микроорганизм поражает хозяина.

МИКРОБНЫЕ ТОКСИНЫ

Микробный токсин может вызвать весьма специфическое поражение ткани хозяина. Например, при попадании в рану *Clostridium tetani* токсин столбняка распространяется по периферическим двигательным нервам к центральной нервной системе, где он связывается с поверхностными рецепторами нейронов и подавляет нормальное синаптическое торможение. По-иному действует на нервную систему *C. botulinum*; он подавляет выделение ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе, блокируя передачу нервного импульса на мышечное волокно.

Однако во многих случаях повреждение представляет собой вторичную, *неспецифическую* реакцию хозяина на первичное действие токсина. Рассмотрим следующий пример. Выход ионов и воды из тканей в кишечник регулируется эпи-

телиальными клетками кишечника; эта регуляция может быть нарушена множеством различных агентов, в частности токсином, выделяемым *Vibrio cholerae*, который вызывает очень сильную и часто приводящую к летальному исходу потерю жидкости. Таким образом, потеря жидкости — неспецифическая реакция хозяина на связывание токсина холерного вибриона клетками кишечного эпителия.

Другая неспецифическая реакция тканей хозяина на заражение — *воспаление*, сложная последовательность клеточных изменений, которые будут подробно описаны ниже. Неспецифический характер воспалительной реакции очень затрудняет выяснение вопроса о том, чем является продукт микроба, вызывающий реакцию, — истинным токсином или аллергеном — антигенным продуктом микроорганизма, индуцирующим воспалительную аллергическую реакцию у предварительно сенсибилизированного хозяина. Предшествующее сенсибилизирующее воздействие антигена, попавшего в организм с пищей или пылью, почти невозможно исключить даже в экспериментах на безмикробных животных.

ПРИРОДА ТОКСИНОВ

Наши представления о природе микробных токсинов получены главным образом благодаря исследованиям патогенных бактерий. Поиски бактериальных токсинов начались вскоре после открытия роли бактерий в возникновении болезней человека. К 1890 г. были обнаружены токсины двух важных патогенных для человека микроорганизмов, *Corynebacterium diphtheriae* и *Clostridium tetani*. В обоих случаях были поставлены одинаковые опыты: бактерию выращивали в культуральной среде *in vitro* и стерильный фильтрат, приготовленный из выросшей культуры, вводили опытным животным. Животные погибали, а при их вскрытии обнаруживались симптомы, характерные для соответствующей естественной инфекции. Токсичные вещества оказались чувствительными к нагреванию и, как выяснилось позже, являлись белками. Поскольку они присутствуют в среде и не связаны с бактериальными клетками, их назвали *экзотоксинами*.

Впоследствии с помощью сходных методов было показано, что экзотоксины, оказывающие специфическое действие на организм, образуются и рядом других патогенных бактерий; их роль в возникновении соответствующих болезней была четко установлена. Однако фильтраты, приготовленные из культур многих других патогенных микроорганизмов, не были токсичными. Это заставило ученых предпринять исследования бактериальных клеток, убитых нагреванием, с целью выяснить, не являются ли они источниками токсических агентов. Такие эксперименты показали, что клетки почти всех грамотрицательных патогенных бактерий токсичны сами по себе; более того, такое же токсическое действие оказывают

и убитые нагреванием клетки многих непатогенных грамотрицательных бактерий. Устойчивые к нагреванию токсины, связанные с клетками грамотрицательных бактерий, были названы *эндотоксинами*. Как мы увидим далее, эндотоксины относительно неспецифичны; при введении экспериментальным животным все они вызывают во многом сходные клинические и патологические симптомы. Изучение их структуры и локализации в клетке потребовало многих лет интенсивных исследований; в настоящее время известно, что эндотоксины — это комплексы липополисахаридов с белками, которые находятся в наружных слоях клеточных стенок грамотрицательных бактерий.

Термины «экзотоксины» и «эндотоксины», которыми называют эти два класса токсических веществ, могут ввести в заблуждение, так как имеющиеся в настоящее время надежные данные показывают, что многие «экзотоксины» связаны с бактериальными клетками во время их роста и высвобождаются только после гибели и лизиса бактерий. Однако экзотоксины можно отличить от эндотоксинов по химической структуре. Первые являются простыми белками, вторые — молекулярными комплексами, содержащими белок, липид и полисахарид. Тем не менее приведенные выше термины в настоящее время настолько общеприняты, что, видимо, отказываться от них не следует.

Исследование клеток и фильтратов культур патогенных бактерий, выращенных *in vitro*, привело к выявлению ряда микробных продуктов, поражающих организм хозяина. Однако для многих важных патогенных бактерий, в том числе возбудителей сибирской язвы и чумы, этот подход не позволил обнаружить никаких сколько-нибудь токсичных продуктов. Условия культивирования в лаборатории всегда отличаются от условий в организме зараженного животного; осознание этого очевидного факта, на который долго не обращали внимания, заставило предпринять поиски бактериальных токсинов, образуемых непосредственно в организме инфицированного животного. Эта работа, проведенная главным образом Смитом (H. Smith) и его сотрудниками, привела к обнаружению специфического экзотоксина, который образует бактерия *Bacillus anthracis*, вызывающая сибирскую язву. Позднее с помощью аналогичных опытов удалось показать существование токсина у *Yersinia pestis*, возбудителя чумы.

Токсины *Bacillus anthracis* и *Yersinia pestis* представляют собой комплекс из двух или более веществ; само по себе каждое из них нетоксично, но в результате их взаимодействия в организме возникает токсический эффект. Эти данные позволили настолько усовершенствовать методы определения токсинов, что в каждом случае удалось установить образование токсина и в культурах бактерий *in vitro*.

Трудность обнаружения токсина какого-либо вирулентного организма часто обусловлена отсутствием подходящей системы для его определения; особенно это относится к формам, специфически патогенным для человека. Например, токсин *Vibrio cholerae*, возбудителя холеры, не удавалось обнаружить в течение многих лет; ни фильтраты культур, ни клеточные экстракты при введении подопытным животным не проявляли токсичности. Токсин был выявлен только при введении фильтратов культур *V. cholerae* в изолированную петлю кишечника кролика; такие фильтраты вызывают сильную потерю жидкости и повреждение слизистой, характерные для болезни, возникающей в естественных условиях. С помощью этой системы определения оказалось возможным очистить токсин *V. cholerae* и показать, что он представляет собой термолабильный белок. Та же система определения позволила обнаружить и выделить токсины вирулентных штаммов *Escherichia coli*.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТОКСИНОВ

Для понимания патогенеза недостаточно выделить токсичное вещество из патогенной бактерии. Чтобы выяснить, обуславливает ли такое вещество вирулентность, следует показать, что оно вызывает один или несколько симптомов заболевания. Кроме того, место действия и эффективная концентрация вещества должны соответствовать таковым при инфекции, возникающей в естественных условиях. Этим требованиям, имеющим экологическое значение, очень трудно удовлетворить, и полностью они были выполнены лишь в сравнительно немногих случаях. Часто используются еще два критерия: корреляция между образованием токсина и вирулентностью у различных штаммов патогенного вида и способность соответствующей антитоксической сыворотки защищать животных от заболевания.

Упомянутые требования были выполнены в случае ботулизма, столбняка и дифтерии. Соответствующие экзотоксины вызывают все симптомы заболеваний и образуются только вирулентными штаммами. Антисыворотка, специфичная в отношении этих токсинов, в естественных условиях полностью защищает животных от заболевания. Несомненное экологическое значение имеют и многие другие микробные продукты, идентифицированные как токсины, но при исследовании каждого из них не был выполнен один или несколько упомянутых выше критериев.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭЗОТОКСИНЫ

Многие вирулентные бактерии при выращивании *in vitro* выделяют токсичные вещества в среду. Некоторые из этих веществ, видимо, являются токсинами, имеющими экологиче-

ское значение; они перечислены в табл. 29.1. Другие, по всей вероятности, не связаны с болезнями, которые вызывают *in vivo* соответствующие патогенные микроорганизмы. Например, грамположительные бактерии родов *Streptococcus*, *Staphylococcus* и *Clostridium* *in vitro* образуют разнообразные цитолитические токсины. Это токсины, многие из которых, видимо, действуют энзиматически, вызывают лизис различных

ТАБЛИЦА 29.1

НЕКОТОРЫЕ ВАЖНЫЕ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ ЭКЗОТОКСИНЫ

Микроорганизм	Экзотоксин	Мишень	Механизм действия
<i>Clostridium botulinum</i>	Нейротоксин	Нервно-мышечный синапс	Подавляет выделение ацетилхолина
<i>Clostridium tetani</i>	»	Центральная нервная система	Подавляет синаптическое торможение
<i>Clostridium perfringens</i>	α -Токсин	Любая ткань в месте поражения	Лецитиназная активность (приводит к лизису клеток)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Дифтерийный токсин	Любая ткань (распространяется по всему организму)	Подавляет синтез белка
<i>Staphylococcus aureus</i>	α -Токсин	Любая ткань	Приводит к лизису клеток
	«Энтеротоксин»	Нервные клетки	Неизвестен
<i>Shigella dysenteriae</i>	Энтеротоксин	Эпителий кишечника	Нарушает регуляцию переноса электролитов
<i>Vibrio cholerae</i>	»	То же	То же
<i>Yersinia pestis</i>	«Токсин морских свинок»	Любая ткань	Неизвестен

клеток у млекопитающих (в том числе эритроцитов, отчего некоторых из них называют *гемолизинами*). Однако роль цитолитических токсинов в патологическом процессе неясна; возможно, они в нем вообще не участвуют (за исключением, по-видимому, стафилококкового α -токсина).

Образование и выделение экзотоксинов. Токсичные белки, образуемые грамположительными бактериями, являются, по-видимому, истинными экзотоксинами: они выделяются в среду интактными клетками во время экспоненциального роста. Эти белки не обнаруживаются в цитоплазме бактерий, и их синтез, по всей вероятности, происходит не на свободных, а на связанных с мембраной рибосомах. Грамположительные бактерии способны выделять внеклеточные ферменты, а также экзотоксины, но механизм, с помощью которого эти белки проходят сквозь клеточную стенку, неизвестен.

В то же время внеклеточные токсины грамотрицательных бактерий не выделяются в среду; они накапливаются внутри клетки и высвобождаются лишь после ее гибели и лизиса.

Функция, которую выполняет токсин, неясна: многие нетоксигенные штаммы размножаются в хозяине так же успешно, как и соответствующие токсигенные штаммы. Гены, определяющие синтез бактериальных экзотоксинов, во многих случаях локализованы в плазмидах или профагах, которые несет бактерия, а не в бактериальной хромосоме. К настоящему времени установлено, что дифтерийный токсин, эритрогенный токсин *Streptococcus pyogenes*, энтеротоксин и α -токсин *Staphylococcus aureus* и токсин *Clostridium botulinum* типа D детерминируются генами профага, а ряд токсинов, продуцируемых штаммами *Escherichia coli*, — плазмидными генами. Во всех этих случаях утрата профага или плазмиды делают клетку нетоксигенной, а при введении профага или плазмиды в клетку образование токсина восстанавливается.

На синтез некоторых бактериальных экзотоксинов сильно влияет концентрация различных ионов металлов в среде. Например, образование дифтерийного токсина, столбнячного токсина, α -токсина *Clostridium perfringens* и энтеротоксина («нейротоксина») *Shigella dysenteriae* подавляется ионами железа в высоких концентрациях, а для образования α -токсина *C. perfringens* необходимы ионы цинка. Механизм этого явления неизвестен; высказывалось предположение, что гены токсинов входят в состав оперонов. В таком случае железо и цинк могут влиять на синтез токсинов путем связывания с продуктами регуляторных генов, репрессорами или активаторами. Гипотезы такого рода можно прямо проверить, так как в настоящее время удается синтезировать, например, дифтерийный токсин в бесклеточной белоксинтезирующей системе, программируемой ДНК токсигенного фага.

Токсины *C. botulinum* типа А и В, также ϵ - и i -токсины *C. perfringens* образуются в результате протеолитического расщепления более крупных нетоксичных полипептидов. Для обнаружения таких токсинов необходимо, чтобы протеолитические ферменты выделялись бактериями в культуральную среду или присутствовали во внеклеточной жидкости или в самих испытываемых клетках при определении токсина.

Механизмы действия экзотоксинов. Действие токсинов проявляется в разрушении определенных субклеточных структур или в нарушении определенных клеточных функций; в ряде случаев удалось продемонстрировать действие очищенных токсинов на препараты чувствительных клеток. Однако трудно быть уверенным в том, что эффект, наблюдаемый *in vitro*, имеет место и при естественной инфекции, а если имеет, то представляет собой результат *первичного* действия токсина. Например, многие экзотоксины обладают сильным гемолитическим действием, но лизис эритроцитов не име-

ет большого значения ни при одной из болезней, сопровождающихся образованием этих токсинов.

Некоторые экзотоксины действуют как *гидролитические ферменты*, расщепляя компоненты клеток или тканей; например, α -токсин *Clostridium perfringens* является лецитиназой. Лецитин — важный липидный компонент клеточных и митохондриальных мембран; его гидролиз под действием α -токсина приводит к разрушению мембраны самых разнообразных клеток и может быть первичной причиной разрушения тканей при газовой гангрене. Кроме того, *Clostridium perfringens* образует ряд других экзотоксинов, в том числе *k*-токсин коллагеназу.

Дифтерийный токсин, образуемый *Corynebacterium diphtheriae*, — пример токсина, действие которого заключается в нарушении нормальной функции клеток, а не в разрушении какой-либо клеточной структуры. Если добавить дифтерийный токсин к культуре клеток млекопитающих, синтез ДНК, РНК и белка почти немедленно прекращается. Однако *первичное* действие токсина, видимо, заключается в подавлении синтеза белка, так как в бесклеточной системе он подавляет также включение аминокислот в полипептиды. С помощью этой системы было обнаружено, что первичный объект действия токсина — фермент трансфераза II, катализирующий один из этапов переноса растущей полипептидной цепи с одной молекулы тРНК на поверхность рибосомы (см. гл. 7). Токсин катализирует перенос АДФ-рибозного остатка НАД на трансферазу II, вследствие чего она инактивируется.

Изучение механизма действия дифтерийного токсина осложнилось тем, что токсин в том виде, в каком он выделяется бактерией, не обладает ферментативной активностью. Протеолитическое расщепление его в присутствии какого-либо тиолового восстанавливающего соединения приводит к образованию двух фрагментов — А и В. Вся ферментативная активность сосредоточена во фрагменте А, а фрагмент В неактивен. Однако, чтобы А мог проникнуть в клетку млекопитающего, он должен быть связан с В. Поэтому ни А, ни В по отдельности не токсичны. Где происходит расщепление токсина с образованием фрагмента, обладающего ферментативной активностью, — в мембране клетки млекопитающего или в цитоплазме, — неизвестно.

Ряд патогенных бактерий образует *энтеротоксины*, которые специфически действуют на эпителий кишечника. К ним относятся *Vibrio cholerae* и некоторые другие вибрионы, *E. coli*, *C. perfringens* и *Shigella dysenteriae*. Фермент, образуемый *Shigella*, обычно называют «нейротоксин Shiga», но в настоящее время выяснено, что его действие на центральную нервную систему (наблюдаемое на кроликах) вторично и является результатом повреждения сосудов. С другой сто-

роны, «энтеротоксин» *Staphylococcus aureus*, который вызывает тошноту и рвоту, на самом деле является нейротоксином и действует на центральную и вегетативную нервную систему.

Истинные энтеротоксины, как оказалось, связываются со специфическими рецепторами мембран чувствительных клеток. Связанный токсин активирует мембранную аденилатциклазу, что вызывает резкое увеличение концентрации циклического АМФ в клетке; это в свою очередь нарушает регуляторные процессы в клетке и вызывает аномальное повышение скорости переноса электролитов — их утечку из тканей. Вместе с электролитами уходит вода; потеря тканевой жидкости приводит к ацидозу и шоку. Если не восполнить потери жидкости и электролитов, циркулирующих в организме, может наступить смерть.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ

Эндотоксины — комплексы липополисахаридов с белками клеточных стенок грамотрицательных бактерий. Они обладают антигенной активностью и идентичны соматическим антигенам целой клетки (О-антигенам). В стареющей культуре грамотрицательных бактерий в результате автолиза эндотоксины выделяются в растворенном виде. Кроме того, с помощью соответствующих методов их можно экстрагировать из суспензий клеток.

Эндотоксины были выделены из всех патогенных грамотрицательных бактерий, в частности из энтеробактерий родов *Salmonella*, *Shigella* и *Escherichia*. Эндотоксины этих организмов обладают двумя видами активности: пирогенностью (вызывают повышение температуры тела) и токсичностью.

Эндотоксины можно разделить на липополисахаридную фракцию, обладающую пирогенной активностью и токсичностью, и белковую фракцию. Белковая фракция не обладает ни той, ни другой активностью, но сообщает всему комплексу антигенные свойства. (Роль белков в приобретении антигенных свойств будет подробнее обсуждаться в гл. 30.) Выделенные липополисахариды весьма активны: введение их в количестве 10^{-6} г вызывает заметное повышение температуры у лошади весом 700 кг.

Очищенные эндотоксины как вирулентных, так и авирулентных энтеробактерий при введении животным вызывают многие патологические симптомы. Они являются *воспалительными агентами*, которые увеличивают проницаемость капилляров и вызывают разрушение клеток. Из разрушенных клеток в свою очередь выделяются воспалительные агенты, которые, видимо, вносят существенный вклад в развитие поражения.

Температура тела животного регулируется с помощью механизмов, которые контролируются определенными центрами

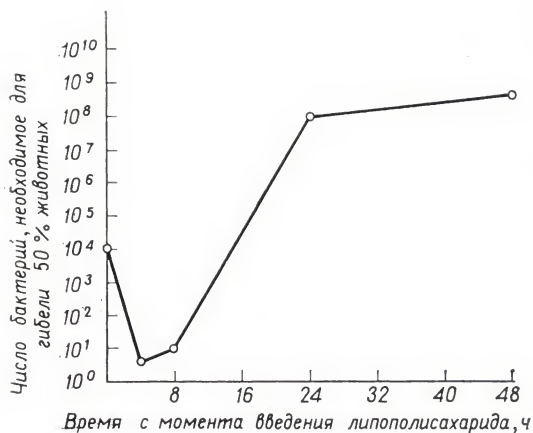


Рис. 29.1. Влияние липополисахаридного эндотоксина на устойчивость к инфекции (объяснение см. в тексте). (Кривая построена по данным О. Вестфала.)

в головном мозге; многие вещества при введении в кровь нарушают эту регуляторную систему и вызывают повышение температуры. Поскольку самые разные типы воспаления сопровождаются повышением температуры, была предпринята попытка найти пирогенные соединения в поврежденных тканях. В конце концов оказалось, что все пирогенные препараты содержат примеси бактериальных эндотоксинов.

В связи с этим при исследовании пирогенности все усилия были направлены на изучение токсинов, которые, как оказалось, обладают необычайно высокой активностью. Эндотоксины не действуют непосредственно на терморегуляторные центры головного мозга; они вызывают высвобождение *эндогенного пирогенного* вещества из полиморфноядерных лейкоцитов. Это вещество, химическая природа которого до сих пор неизвестна, и вызывает повышение температуры.

Воспалительное и пирогенное действие эндотоксинов *неспецифично*. Хотя и тот и другой эффекты, несомненно, вносят свой вклад в общую картину заболевания, но не они определяют специфические симптомы болезни, вызываемой грамотрицательными патогенными бактериями. Важно также подчеркнуть, что повышение температуры и токсикоз сопровождают тяжелые инфекции, вызванные и грамположительными бактериями, которые не содержат эндотоксинов.

Эндотоксины энтеробактерий при введении их животным в небольших дозах вызывают временные изменения неспецифической устойчивости к инфекции. На рис. 29.1 показано, что происходит после введения мышам очищенной липополисахаридной фракции эндотоксина; проверялась устойчивость мышей к инфекции путем введения им через различные промежутки времени вирулентного штамма *E. coli*. Сразу после введения липополисахарида чувствительность мышей к бактериальному заражению резко увеличивается: ЛД₅₀ (число

димое для гибели 50% испытуемых животных) снижается в тысячу раз. Но в течение следующих 24 ч их чувствительность к инфекции сильно снижается: ЛД₅₀ возрастает, пока не достигнет величины, примерно в 100 000 раз превышающей ЛД₅₀ для контроля. Повышенная устойчивость сохраняется 3—5 дней и затем исчезает. Роль эндотоксина в увеличении устойчивости животных к заражению неспецифична; очищенный липополисахарид, полученный из одного вида грамотрицательных бактерий, сообщает устойчивость к заражению другими видами грамотрицательных бактерий. Механизм этого явления неизвестен. Оно может играть весьма важную роль в природе, поскольку все млекопитающие (включая человека) постоянно подвергаются действию эндотоксинов кишечных бактерий.

ИНФЕКЦИЯ ЭПИТЕЛИЯ

Почти все микробные инфекции начинаются на поверхности слизистых. Эти инфекции можно разделить на две группы: те, что в ходе развития переходят в субэпителиальные ткани, и те, что остаются локализованными на поверхности. В последнем случае токсины, образованные микроорганизмами, могут вызвать только местное повреждение или диффундировать в организм и вызвать повреждения тканей-мишеней, т. е. тканей, содержащих чувствительные клетки.

ПРИКРЕПЛЕНИЕ БЕЗ ПРОНИКНОВЕНИЯ

Эпителий дыхательных путей, кишечного тракта и влагалища покрыт плотным слоем микроорганизмов, которых в совокупности называют *нормальной микрофлорой* (гл. 28). Каждый из этих видов эпителия имеет свою собственную типичную микрофлору, представленную микроорганизмами, прочно прикрепленными к эпителиальным клеткам. Например, для *Streptococcus salivarius* характерно прикрепление к эпителиальным клеткам слизистой языка и щек, но не к поверхности зубов.

Другой стрептококк, *S. mutans*, представитель нормальной микрофлоры ротовой полости, специфически прикрепляется к зубной эмали с помощью ряда капсульных полисахаридов, которые образуются только в том случае, если бактерия растет в присутствии сахарозы. *S. mutans* участвует в развитии кариеса; разрушение эмали обусловлено интенсивным образованием кислоты на поверхности зуба. Эти данные объясняют давно известную корреляцию между частотой возникновения кариеса зубов и уровнем потребления человеком сахарозы.

Нормальная микрофлора представляет собой прочный
375 барьер для посторонних патогенных бактерий, так как кон-

Рис. 29.2. Электронные микрофотографии тонких срезов эпителиальных клеток кишечника морской свинки через 12 ч после заражения животных *Salmonella typhimurium*. А. Некоторые бактерии находятся в непосредственной бли-

зости от интактных микроворсинок; Л — лимфоциты, мигрирующие между эпителиальными клетками (×8400). Б. Вокруг адсорбированной бактерии происходит разрушение щетки микроворсинок и прилегающей цитоплазмы

(×5000). [Takeuchi A., Electron Microscope Studies of Experimental *Salmonella* Infection. I. Penetration into the Intestinal Epithelium by *Salmonella typhimurium*, Ann. J. Pathol., 50, 109 (1967).]



курирует с ними за места прикрепления и питательные вещества и образует продукты, подавляющие рост патогенных бактерий, например органические кислоты. Сами слизистые также секретируют антибактериальные вещества, в том числе жирные кислоты с длинной цепью и лизоцим. В дыхательных путях в результате ритмического движения ресничек мерцательного эпителия пленка секретируемой слизи и слабо прикрепленные микроорганизмы перемещаются вдоль слизистой и выводятся наружу.

Чтобы закрепиться на слизистой, патогенный микроорганизм должен преодолеть все эти защитные барьеры; как это происходит — неясно, но способность конкурировать с нормальной микрофлорой абсолютно необходима. Опыты с безмикробными животными (гл. 28) подтвердили защитную роль нормальной микрофлоры.

В качестве примеров патогенных бактерий, остающихся на поверхности эпителия, назовем *Bordetella pertussis* и *Corynebacterium diphtheriae* в дыхательных путях млекопитающих и *Vibrio cholerae* в кишечном тракте. *B. pertussis* — возбудитель коклюша; он продуцирует экзотоксин, действующий локально в месте выделения и вызывающий некроз субэпи-

телиальных тканей и воспаление. Экзотоксин *C. diphtheriae* диффундирует через слизистую и разносится кровью по всему организму, поражая многие ткани. Экзотоксин *Vibrio cholerae* действует локально на эпителиальные клетки кишечника.

ПРОНИКНОВЕНИЕ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Одна из патогенных бактерий, которая проникает в эпителиальные клетки, вызывая разрушение и изъязвление слизистого эпителия кишечного тракта, — это *Shigella dysenteriae*.

Механизм проникновения, видимо, основан на диффузии внеклеточного бактериального продукта, стимулирующего активность эпителиальных клеток, подобную фагоцитозу; на электронных микрофотографиях тонких срезов видно, что микроворсинки этих клеток на расстоянии примерно 300 нм от бактерий разрушены (рис. 29.2) и бактерии проникают в клетки через вывернутые фрагменты цитоплазматической мембраны, убивая в конце концов клетки, в которые они попадают.

ИНФЕКЦИИ СУБЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Проникнув через эпителий, микроорганизм сталкивается с новыми, весьма эффективными защитными механизмами хозяина, а также с разнообразными по составу биохимическими средами в тканях. Инфекционность микроорганизма зависит от его способности размножаться в таких средах и преодолевать защитные барьеры.

БИОХИМИЧЕСКАЯ СРЕДА

В ходе эволюционного развития болезнетворные микроорганизмы приспособились к росту в тех или иных тканях хозяина. Можно предположить, что высокая степень тканевой специфичности, которая присуща многим микробам, отражает различия между тканями в отношении состава биохимической среды, по крайней мере в тех случаях, когда нет очевидных различий в защитных механизмах. Однако до настоящего времени удалось четко выявить только одно такое различие, связанное с содержанием эритритола. Эритритол — предпочтительный источник углерода для нескольких видов *Brucella*, которые вызывают выкидыши у копытных; он обнаруживается в высокой концентрации только в плаценте (но не в других тканях) копытных и отсутствует в плаценте разных видов животных (крысы, кролика, морской свинки), устойчивых к заражению.

При некоторых инфекционных заболеваниях, в частности при туберкулезе, фактором, ограничивающим рост микробов, является доступность свободного железа. И хозяин, и паразит

используют для переноса железа в клетки выделяемые ими хелирующие соединения. Клетки хозяина выделяют в кровь *трансферрины* — белки, связывающие железо в хелатные комплексы. Бактерии выделяют различные низкомолекулярные хелирующие агенты, связывающие железо; специфический агент, выделяемый микобактерией туберкулеза, называется *микобактином*.

Взаимодействия между хелирующими соединениями и клетками высокоспецифичны. Так, железо, связанное с трансферрином, могут использовать клетки млекопитающих, но не туберкулезные бактерии; для железа, связанного с микобактином, ситуация обратная. В результате возникает «битва» за железо, исход которой зависит от относительной силы связывания и от концентрации хелирующих агентов, выделяемых хозяином и паразитом. Введение в организм хозяина железа или хелирующего соединения, выделяемого соответствующей бактерией, благоприятствует паразиту, тогда как введение соединений, снижающих концентрацию свободного железа, защищает хозяина от инфекции.

Действие железа на ход некоторых бактериальных инфекций может осложняться его влиянием на токсигенность: высокие концентрации железа подавляют образование экзотоксина у таких патогенных бактерий, как *Corynebacterium diphtheriae* и *Clostridium tetani*, хотя и способствуют их инвазивности.

КОНСТИТУТИВНЫЕ ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХОЗЯИНА

У позвоночных возникли многочисленные механизмы защиты от паразитических микробов. Некоторые из этих механизмов *конститутивны*; они существуют у хозяина, не подвергавшегося никакому воздействию.

Другие механизмы *индуцибельны*: они возникают только у животных, подвергавшихся, например, предварительному воздействию болезнетворного микроба или продуктов его жизнедеятельности.

Основные конститутивные защитные механизмы, с которыми сталкивается микроорганизм, проникающий под слои эпителия, — это *фагоциты* (клетки, которые поглощают и переваривают посторонние частицы), некоторые *антимикробные вещества* в тканях и циркулирующих жидкостях, а также определенная последовательность реакций, именуемая *воспалением*.

ФАГОЦИТЫ

Фагоциты обнаруживаются как в крови, так и в тканях. Лейкоциты (белые клетки крови) описаны в табл. 29.2 и показаны на рис. 29.3. К ним относятся фагоцитарные клетки

двух типов: *моноциты* и *гранулоциты*¹. Такое название гранулоциты получили в связи с тем, что в их цитоплазме имеются гранулы; исходя из способности этих гранул окрашиваться, гранулоциты подразделяются на *эозинофилы* (гранулы окрашиваются кислым красителем эозином), *базофилы* (гранулы окрашиваются основным красителем метиленовым синим) и

ТАБЛИЦА 29.2
ЛЕЙКОЦИТЫ

Тип клеток	Локализация и развитие	Основная защитная функция
Моноциты	Циркулируют в крови, перемещаются благодаря хемотаксису к очагам воспаления, превращаясь при этом в тканевые макрофаги	Фагоцитоз
Гранулоциты	Циркулируют в крови; благодаря хемотаксису перемещаются к очагам воспаления	Фагоцитоз (главным образом у нейтрофильных гранулоцитов)
Покоящиеся макрофаги	Выстилают синусы печени, селезенки, костного мозга и лимфатических узлов (ретiculo-эндотелиальная система)	Фагоцитоз
Лимфоциты	Циркулируют в крови; благодаря хемотаксису перемещаются к очагам воспаления. Антигенная стимуляция клеток одного типа (В-клеток) вызывает их увеличение и превращение в плазматические клетки	Выделение антител (плазматические клетки); клеточные иммунные функции (Т-клетки) (см. табл. 29.3).

нейтрофилы (гранулы окрашиваются смесью кислого и основного красителей). Все гранулярные лейкоциты способны к фагоцитозу, но только нейтрофилы достаточно активны в этом отношении, чтобы играть существенную роль в защитных механизмах хозяина.

Когда в ткани возникает инфекция, в ней выделяются вещества, привлекающие нейтрофилы и моноциты к месту повреждения (*хемотаксис*). Во время этого процесса, который будет описан более подробно в разделе, посвященном воспалению, моноциты увеличиваются в размере и превращаются в клетки, называемые *макрофагами* и обладающие повышенной фагоцитарной активностью. Макрофаги встречаются также в виде покоящихся клеток в некоторых органах: печени,

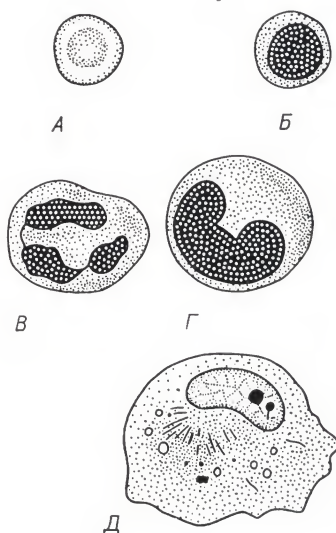


Рис. 29.3. Некоторые типы клеток крови: эритроцит (А), малый лимфоцит (Б), гранулоцит (В), моноцит (Г), макрофаг (Д).

селезенке, костном мозге и лимфатических узлах. Поскольку они играют в этих органах большей частью роль ретикулярных (образующих структурную сеть) или эндотелиальных (выстилающих полость) клеток, покоящиеся макрофаги в совокупности называют *ретикуло-эндотелиальной системой*. Ретикуло-эндотелиальная система представляет собой главную линию обороны организма животного, активно отсеивая микроорганизмы, «прорвавшие» внешние барьеры.

Процесс фагоцитоза. Процесс фагоцитоза состоит из двух этапов. На первом этапе микроорганизм *прикрепляется* к мембране макрофага. Прикрепление инициирует процесс поглощения: со всех сторон от микроорганизма из клетки вытягиваются и сливаются друг с другом псевдоподии так, что микроорганизм в конце концов оказывается заключенным в вакуоль, ограниченную мембраной (рис. 29.4). Процесс поглощения требует метаболической энергии, источником которой служит в основном гликолиз. Молочная кислота, образующаяся при гликолизе, снижает рН внутри вакуоли до 5,5 и ниже.

Разрушение микроорганизмов в результате фагоцитоза. Образовавшаяся внутри фагоцита фагоцитарная вакуоль сливается с лизосомами; заключенная в вакуоль бактерия переваривается под действием сложной смеси веществ, которые высвобождаются из лизосом. К ним относятся некоторые бактерицидные вещества: два фермента — лизоцим и мнелопероксидаза, основные полипептиды и белок, который называется *фагоцитин*. Макромолекулярные компоненты убитых бактериальных клеток перевариваются множеством лизо-

Рис. 29.4. Переваривание пневмококка фагоцитом в присутствии антител. А. Два пневмококка в контакте в псевдоподий фагоцита. Б. Те же самые пневмококки внутри фагоцита, по обе стороны от выроста ядра; группа из четырех

пневмококков находится в процессе поглощения. В. Шесть из восьми пневмококков поглощены. Г. Схематическое изображение этапов фагоцитоза, показывающее образование вакуоли путем выворачивания клеточной мембраны. [А—

В — из работы Wood W. B., Jr., Smith M. R., Watson B., Studies on the Mechanism of Recovery in Pneumococcal Pneumonia: IV. The Mechanism of Phagocytosis in the Absence of Antibody, J. Exptl. Med., 84, 402 (1946).]



сомных гидролаз с низким оптимумом pH. Среди этих ферментов особо важную роль в летальном действии играет, видимо, миелопероксидаза. Фагоциты с дефектной миелопероксидазной системой менее эффективно разрушают поглощенные микроорганизмы, а организмы с таким дефектом весьма чувствительны к инфекционным заболеваниям.

Устойчивость вирулентных микроорганизмов к фагоцитарному разрушению. Инвазивность, а следовательно, и виру-

лентность многих патогенных микроорганизмов обусловлены их устойчивостью к фагоцитозу или внутриклеточному разрушению. В некоторых случаях эта устойчивость связана с тем, что микроорганизмы выделяют вещества, блокирующие процесс фагоцитоза. Эти вещества вместе с другими бактериальными продуктами, способствующими распространению болезнетворных микробов в хозяине при заражении, называют в совокупности *агрессинами*. Одни агрессины подавляют реакцию хемотаксиса фагоцитов крови; другие (в частности, капсула) блокируют прикрепление и поглощение бактериальных клеток; третьи подавляют внутриклеточное переваривание поглощенных фагоцитом клеток. К тому же многие болезнетворные бактерии выделяют вещества, называемые *лейкоцидинами*, которые убивают фагоциты.

АНТИМИКРОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА В ТКАНЯХ И ЖИДКОСТЯХ ОРГАНИЗМА

Как мы уже отмечали, фагоциты содержат ряд антибактериальных веществ. Одно из них, лизоцим, встречается не только в фагоцитах; он был обнаружен в слезной жидкости, слюне, слизи и в экскретах многих органов, в том числе кожи. Кроме того, оказалось, что ткани содержат и другие антимикробные вещества, в частности полипептиды и полиамины.

Еще одна группа антибактериальных веществ, называемых β -лизинами, содержится в сыворотке. β -Лизины — устойчивые к нагреванию вещества неизвестного состава, которые образуются при коагуляции тромбоцитов. Они активны по отношению ко многим грамположительным бактериям.

ВОСПАЛЕНИЕ

Если ткань высшего животного подвергается действию того или иного раздражителя, в ней возникает воспаление. Характерные признаки воспаления — краснота, отек, повышение температуры, боль — хорошо известны. Причины повышения температуры и появления боли не совсем понятны, а покраснение и отек легко объяснимы. При воспалении кровеносные капилляры расширяются, что приводит к увеличению тока крови через этот участок и, следовательно, к покраснению. Кроме того, проницаемость стенок капилляров повышается, растворимые белки выходят из сосудов, что приводит к движению жидкости в ткани и, следовательно, к отеку.

Тот факт, что воспаление вызывается самыми разнообразными раздражителями (тепло, механическое повреждение, микробная инфекция), позволяет думать, что симптомы воспаления обусловлены каким-то веществом, выделяющимся из поврежденных клеток или активирующимся в жидкостях организма. Из множества различных соединений, выделенных из клеток или из сыворотки и вызывающих в эксперименте воспаление, наиболее изучены *гистамин* и *серотонин* (5-окси-

триптамин). Гистамин и серотонин (рис. 29.5) присутствуют в слабосвязанном состоянии в тромбоцитах, а также в клетках многих тканей и высвобождаются под действием различных раздражителей.

По мере развития воспалительной реакции происходят резкие изменения в поведении гранулоцитов. Сначала они прикрепляются к внутренним стенкам капилляров, затем про-

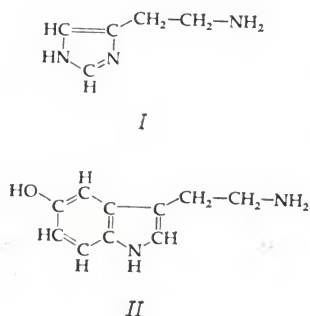


Рис. 29.5. Структурные формулы гистамина (I) и серотонина (II). Гистамин — продукт декарбоксилирования гистидина; серотонин — продукт декарбоксилирования 5-окситриптофана.

кладывают себе путь между клетками стенки и выходят в ткани, причем весь этот процесс может занимать всего 2 мин (рис. 29.6, А—Г). Если причина воспаления — бактериальная инфекция, то гранулоциты движутся к очагу инфекции, реагируя на вещества, выделяемые бактериями (хемотаксис). По мере развития воспаления фагоциты выделяют лизосомные ферменты, повреждающие и в конце концов разрушающие близлежащие клетки ткани.

На поздних стадиях воспаления гранулоциты, скопившиеся в очаге воспаления, замещаются моноцитами. Причина этого последовательного накопления фагоцитов двух типов неизвестна, однако твердо установлено, что моноциты реагируют на те же вещества, что и гранулоциты (рис 29.7).

Лимфоциты — клетки, образующие антитела, — также покидают кровяное русло и скапливаются в месте повреждения. Видимо, они выходят из капилляров, проходя *сквозь* эндотелиальные клетки, а не *между* ними (рис. 29.6, Е—И).

Рассмотрим теперь, каким образом воспаление (явление само по себе патологическое) может выступать в роли защитного механизма. Во-первых, ткани на месте заражения обогащаются фагоцитами; во-вторых, увеличивается доступ плазмы к тканям и таким образом возрастает локальная концентрация бактерицидных факторов сыворотки и антител; в-третьих, развитие воспаления приводит к накоплению мертвых клеток хозяина, из которых выделяются бактерицидные тканевые вещества. В центре участка некроза парциальное давление кислорода снижено, и происходит накопление молочной кислоты; эти условия неблагоприятны для роста многих патогенных бактерий. Наконец, повышенная

Рис. 29.6. А—Г. Стадии миграции гранулоцита через стенку венулы. Клетка проходит через область контакта клеток эндотелия, не проникая внутрь клеток. Д. Участок воспаленной венулы. Клетка м — моноцит, проникающий с помощью того же механизма через область контакта клеток; э — эндотелий; я — ядро эндотели-

альной клетки; пэ — периэндотелиальный слой. Е—И. Стадии миграции малого лимфоцита через эндотелиальную клетку венулы. На одной из стадий лимфоцит целиком находится внутри клетки эндотелия. К. Часть венулы нормального лимфатического узла; лимфоцит (л) полностью окружен цитоплазмой эндотелиальной клетки;

я — ядро эндотелиальной клетки; 1 — просвет венулы; 2 — клетка эндотелия; 3 — область контакта клеток; 4 — базальная мембрана; 5 — лимфоцит. [Marchesi V. T., Gowans J. L., The Migration of Lymphocytes through the Endothelium of Venules in lymph Nodes: an Electron Microscope Study, Proc. Roy. Soc. B, 159, 283 (1964).]

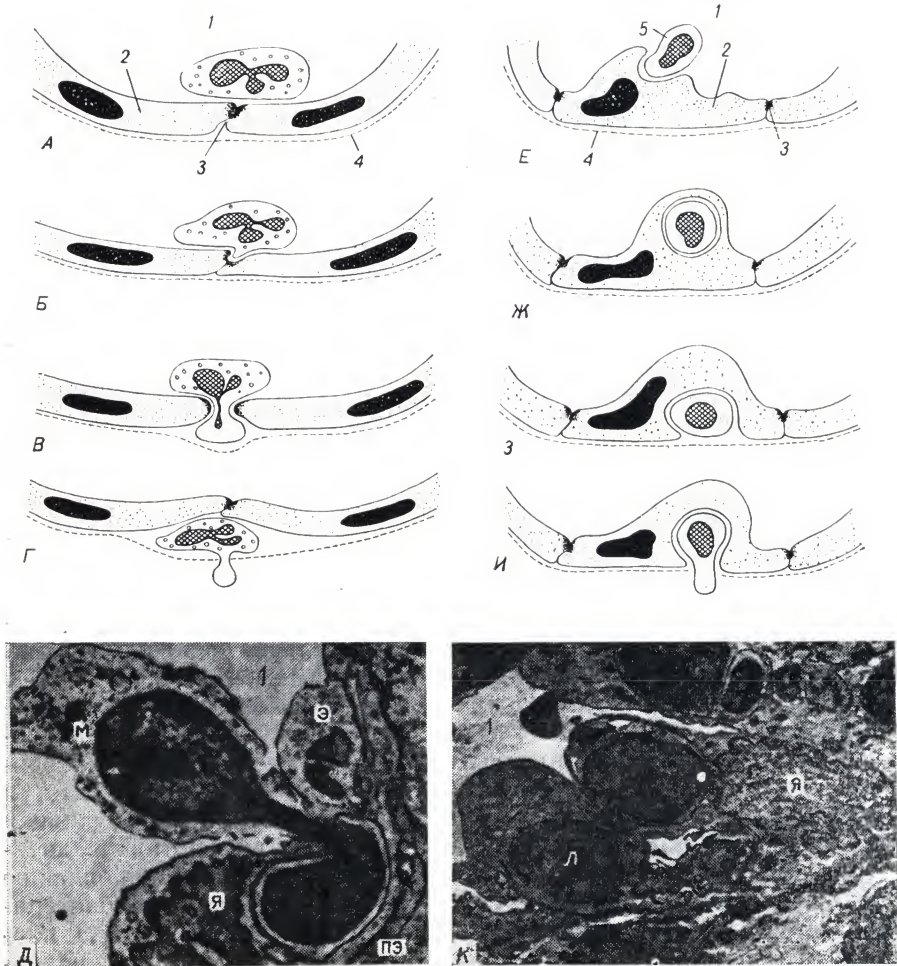
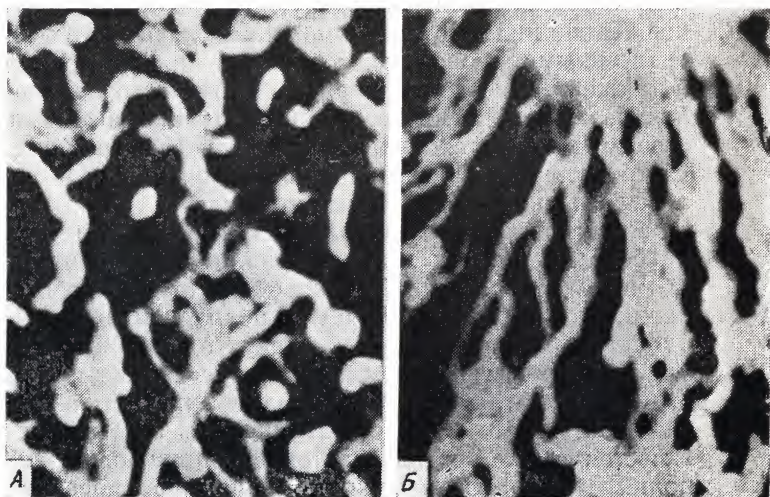


Рис. 29.7. Хемотаксис моноцитов. Пути передвижения моноцитов выглядят на фотографии как светлые пятна.

А. Моноциты движутся случайно; Б. Направленное движение моноцитов к скоплению бактерий (в

верхней части рисунка). [Harris H., Chemotaxis of Monocytes, Brit. J. Exptl. Pathol., 34, 278 (1953).]



температура, характерная для лихорадочного состояния, замедляет размножение некоторых вирусов. Таким образом, воспаление вводит в действие все механизмы конститутивной устойчивости.

ИНДУЦИБЕЛЬНЫЕ ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХОЗЯИНА: ИММУННЫЙ ОТВЕТ

При эпителиальных и субэпителиальных инфекциях продолжительный контакт хозяина с возбудителем приводит к индукции новых специфических защитных реакций, которые в совокупности называют *иммунным ответом*. Существуют два класса иммунных ответов: образование циркулирующих в крови и секретируемых *антител* и образование специфических *сенсibilизированных клеток*. Иммунный ответ обычно снижает токсигенность и инвазивность возбудителя до такой степени, что конститутивные механизмы хозяина могут легко с ним справиться. Но в некоторых случаях патогенный микроорганизм обладает факторами вирулентности, которые подавляют иммунный ответ или обеспечивают устойчивость к нему. Кроме того, при ряде инфекционных заболеваний иммунный ответ сам по себе ведет к повреждению тканей хозяина, связанному с реакцией, которую называют *повышенной чувствительностью (аллергией)*.

Термин *антитела* относится к группе сходных белков-глобулинов, способных к специфическому нековалентному связыванию с молекулами, индуцирующими образование этих белков. Такие индуцирующие молекулы называются *антигенами*; антигенными свойствами обладают практически все белки, а также многие полисахариды. Кроме того, многие типы молекул, которые сами по себе не обладают антигенными свойствами, становятся антигенами при связывании с белками; к этому классу относятся липиды, нуклеиновые кислоты, углеводы и многие небольшие молекулы.

Антитела, или *иммуноглобулины*, делятся на несколько классов, но все они обладают некоторыми общими структурными особенностями. В основе структуры любого антитела лежит комплекс из четырех полипептидных цепей — двух одинаковых тяжелых цепей и двух одинаковых легких. Они уложены таким образом, что на поверхности образующейся структуры возникают два одинаковых участка, которые обозначаются Fab и содержат центры связывания антигена. Имеется также третий участок, Fc, придающий антителу дополнительную специфичность, например способность связываться с мембранами некоторых клеток (рис. 29.8).

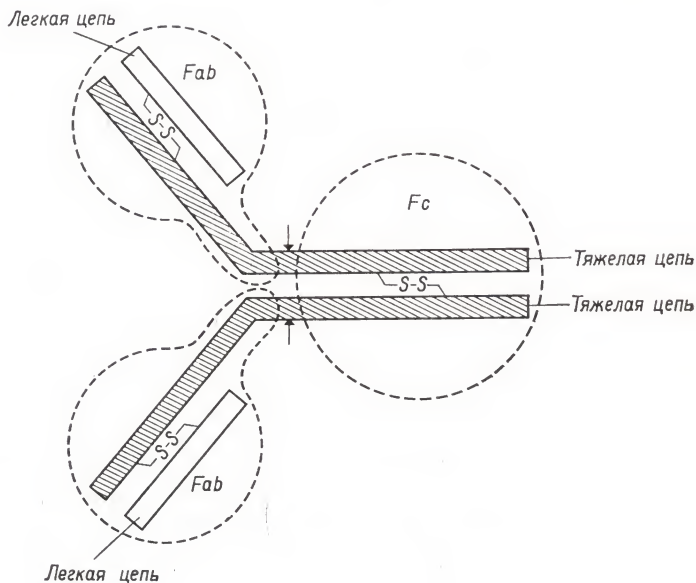
Центры связывания — неглубокие впадины на поверхности молекулы глобулина, которые подходят к выступам на комплементарной поверхности молекулы антигена (замок и ключ). Соответствующий выступ называется *антигенной детерминантой*, а тот его участок, который непосредственно связывается с антителом, — *гаптенной группой*.

Антигенную специфичность белка можно изменить присоединением к нему небольшой молекулы, которая сама по себе совершенно лишена антигенных свойств. Антитела, образующиеся против модифицированного белка, могут не связываться с исходным белком, но проявлять специфичность при связывании с модифицированным белком. Более того, эти антитела могут связываться непосредственно с малой молекулой, даже если она не находится в комплексе ни с каким белком. Например, молекулу сульфаниловой кислоты можно присоединить к белку, как показано на рис. 29.9, и иммунизировать этим белком какое-либо животное. Способность образующихся антител связываться со свободной сульфаниловой кислотой доказывается тем, что она специфически препятствует связыванию антитела с белком, к которому присоединена сульфаниловая кислота. Специфичность антител поразительна; например, изомер сульфаниловой кислоты, в котором сульфогруппа находится в *орто*-положении по отношению к аминогруппе, не связывается с антителами против белка с присоединенной к нему сульфаниловой кислотой, в которой сульфогруппа находится в *пара*-положении.

Рис. 29.8. Схематическое изображение структуры иммуноглобулина. Молекула состоит из двух тяжелых и двух легких полипептидных цепей, которые удерживаются вместе дисульфидными

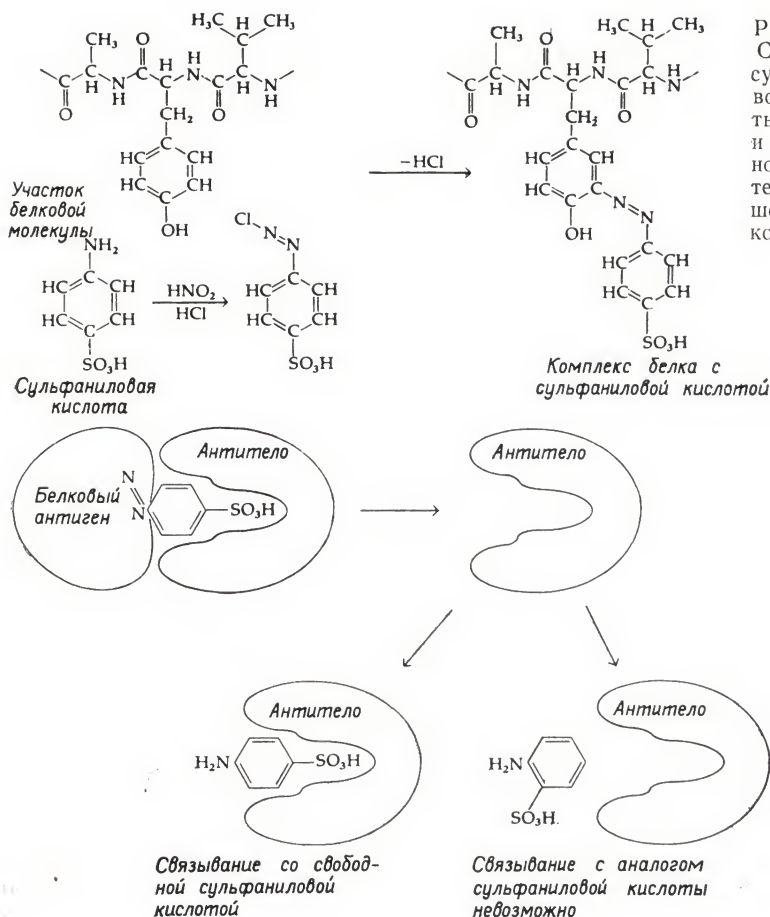
мостиками. Молекулу можно гидролизовать папаином; места расщепления указаны стрелками. При этом образуются три фрагмента. Два из них, обозначаемые Fab, идентичны; каждый

содержит один участок связывания антигена. Третий фрагмент, Fc, можно закристаллизовать; он содержит участки, обеспечивающие связывание антител с определенными клетками хозяина.



Таким образом, сульфаниловая кислота ведет себя как гаптен. Гаптен можно определить как неиммуногенную молекулу, которая, будучи присоединенной к белку, определяет антигенную специфичность комплекса; в свободном виде гаптен связывается с антителом, специфичность которого обусловлена этим гаптеном.

Организм позвоночного способен образовывать антитела против многих тысяч различных антигенов. Поскольку антитела высокоспецифичны, это означает, что отдельная особь способна образовать тысячи разных тяжелых и легких полипептидных цепей, каждая из которых обладает уникальной аминокислотной последовательностью. Из молекулярной генетики известно, что различия в аминокислотной последовательности отражают различия в нуклеотидной последовательности ДНК. Из этого с неизбежностью следует, что геном позвоночного содержит много тысяч генов, кодирующих пептиды различных иммуноглобулинов, причем каждый из них определяет свою собственную специфичность связывания антигена; альтернативная возможность состоит в том, что ге-



нетические различия возникают благодаря соматическим мутациям и/или рекомбинации в ходе развития клеток особи, продуцирующих антитела.

Образование антител. Антитела образуются одним классом лейкоцитов, которые называются *лимфоцитами*. Существуют два типа лимфоцитов, играющих совершенно разную роль в иммунном ответе: В-клетки и Т-клетки. В-клетки активно секретируют антитела, а Т-клетки обуславливают клеточный иммунитет и играют какую-то роль в индукции синтеза антител под действием антигенов в В-клетках (табл. 29.3).

Во время дифференцировки В-клеток в каждой из них активизируется один и только один набор генов, детерминирующий синтез полипептидных цепей иммуноглобулинов. Эта активация носит случайный характер: разные В-клетки образуют разные иммуноглобулины; таким образом, последова-

ТАБЛИЦА 29.3
НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА В- И Т-КЛЕТОК

Свойство	В-клетки	Т-клетки
Наличие антигенсвязывающих рецепторов на поверхности клетки	Специфические антигены	Специфические рецепторные молекулы; их связь с антигенами неясна
Реакция на связывание «своего» антигена	Увеличиваются, делятся, превращаются в плазматические клетки, секретирующие антитела	Увеличиваются, делятся, выделяют описанные ниже продукты
Способность к образованию антител	Синтез и выделение антител	Стимуляция образования антител В-клетками путем 1) выделения факторов, стимулирующих развитие В-клеток; 2) непосредственного взаимодействия с В-клетками и макрофагами (в ответ на некоторые антигены)
Цитотоксическая активность	Отсутствует	Стимулированные антигеном Т-клетки убивают несущие антигены клетки-мишени при контакте
Действие на макрофаги		Выделяют факторы, которые 1) стимулируют фагоцитарную активность макрофагов; 2) привлекают макрофагов; 3) подавляют дальнейшее движение макрофагов

тельные клеточные деления активированной В-клетки дают *клон* клеток, образующий определенные антитела. Лимфоциты новорожденных представляют собой смешанную популяцию таких клонов, способную к образованию многих тысяч самых разнообразных антител. Параллельно идет образование разнообразных Т-клеток, причем клетки каждого клона содержат в своих клеточных мембранах уникальный *антигенный рецептор*. Клетки обоих типов поступают в кровь в виде *малых лимфоцитов*.

Малые В-лимфоциты выделяют слишком мало молекул антител, чтобы их можно было обнаружить, но они в изобилии присутствуют на поверхности клеточной мембраны. Эти

лимфоциты делятся редко, кроме тех случаев, когда одна или несколько молекул специфического антигена образуют комплекс с антителом, связанным с мембраной. Это заставляет клетку быстро расти и делиться; ее многочисленное потомство превращается в более крупные клетки другого типа (*плазматические клетки*), которые с высокой скоростью синтезируют и секретируют антитела. В результате контакта со специфическим антигеном происходит также стимуляция Т-клеток к делению и увеличению размеров; некоторые из специфических выделяемых продуктов вызывают развитие сходных с ними В-клеток и других клеток, участвующих в процессах клеточного иммунитета (см. ниже).

Описанные выше события вносят свой вклад во многие явления, наблюдаемые в ходе инфекционного процесса. Антигены, расположенные на поверхности микроорганизма или выделяемые им, связываются с поверхностью тех малых лимфоцитов (как В-, так и Т-типа), которые несут соответствующие рецепторы. Затем клоны этих лимфоцитов интенсивно размножаются путем деления (этот процесс называется *клональной селекцией*), и потомство В-клеток (плазматические клетки) начинает интенсивно образовывать соответствующие антитела. Наконец, инфекция завершается и антигены больше не образуются; синтез антител подавляется, многие увеличенные лимфоциты снова становятся малыми покоящимися лимфоцитами. Теперь особь обладает большими по численности клонами *клеток памяти*, которые способны при последующей стимуляции образовывать специфические антитела. Таким образом, индивидуум, излечившийся от бактериального заболевания, при повторном воздействии того же возбудителя сможет образовать антитела против него гораздо быстрее, чем при первоначальном заражении; это так называемая *анамнестическая реакция*.

Необходимость взаимодействия между В- и Т-клетками в процессе образования антител зависит от того, какой антиген участвует в реакции. В тех случаях, когда необходимо присутствие Т-клеток, необходимо также и взаимодействие с *макрофагами*, на поверхности которых находится неспецифически связанный антиген. Таким образом, во многих случаях для образования В-клетками антител необходимо тройное взаимодействие между В-клетками, Т-клетками и макрофагами.

Антимикробные последствия связывания антигена с антителом. Чтобы разрушить клетки хозяина, вирусы и микробные токсины должны вначале связаться с рецепторами на клеточных мембранах. Связывание антитела с вирусом или молекулой токсина может полностью заблокировать этот процесс и таким образом защитить организм от инфекции. Данное явление называется *нейтрализацией*.

Связывание антител с поверхностью клеток микробов не оказывает заметного прямого влияния на рост микробов или образование токсинов, однако значительно повышает чувствительность всех бактериальных клеток к фагоцитозу. Кроме того, связывание антител делает клетки грамотрицательных бактерий чувствительными к лизису под действием группы белков, которая в норме присутствует в крови и называется *комплемента*. Наконец, связывание антител с растворимыми бактериальными антигенами вызывает усиленную воспалительную реакцию хозяина.

Лизис покрытых антителами клеток под действием комплемента. В 1894 г. Р. Пфейфер (R. Pfeiffer) и его сотрудники обнаружили, что некоторые грамотрицательные бактерии лизируются под действием антисыворотки к этим бактериям. Сыворотка утрачивала свою литическую активность после прогревания при 56 °С в течение нескольких минут; активность восстанавливалась при добавлении свежей сыворотки. Следовательно, для лизиса бактериальных клеток нужны специфические антитела и неспецифический компонент нормальной сыворотки, называемый *комплемента*. Комплемент, как теперь известно, — это группа белков, а не какое-либо одно вещество; например, комплемент сыворотки человека содержит 11 разных белков. Грамотрицательные бактерии, связанные с антителами, обычно чувствительны к лизису под действием комплемента, тогда как грамположительные бактерии полностью устойчивы. Причина этого различия еще не раскрыта.

Эритроциты, связанные со специфическими антителами, также лизируются комплементом. Механизм этой *реакции связывания комплемента* подробно изучен, и его можно в целом описать следующим образом.

Первый этап — связывание антител с поверхностью эритроцита. Связавшиеся антитела изменяются (возможно, путем аллостерического перехода) таким образом, что в свою очередь связывают один из компонентов комплемента C'1¹. Компонент C'1, который, как оказалось, является комплексом из трех разных белков, не обладает ферментативной активностью. Однако при связывании с комплексом антигена с антителом он переходит в другую форму, обладающую эстеразной и протеазной активностями, и взаимодействует с компонентом C'4, расщепляя его с образованием фрагмента C'4b. Этот фрагмент также связывается с комплексом. Теперь комплекс имеет такой состав: клетка—антитело—C'1—C'4b. Он связывает C'2, который расщепляется под действием C'1 и дает связывающийся фрагмент C'2a.

¹ Комплемент обозначается символом C'. Компоненты комплемента были пронумерованы, причем система нумерации частично отражает порядок, в котором они были открыты.

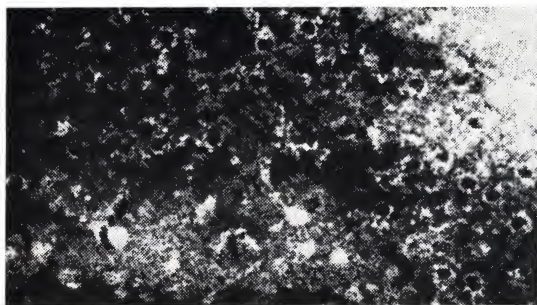


Рис. 29.10. Бараний эритроцит, сенсibilизированный соответствующей кроличьей антисывороткой; лизис в присутствии комплемента ($\times 233\ 000$). (С любезного разрешения М. Поллея.)

На следующих этапах к комплексу присоединяются другие компоненты комплемента C' с образованием в конце концов комплекса клетка—антитело— $C'1$, 4b, 2a, 3b, 5b, 6, 7, 8 и 9. На стадии присоединения $C'5$ поверхность мембраны эритроцита повреждается (рис. 29.10), но лизис происходит только при связывании компонентов $C'8$ и $C'9$.

Фагоцитоз, стимулированный антителами (опсонизация). Как уже говорилось выше, микробные клетки, связанные с антителами, более чувствительны к фагоцитозу. Их чувствительность становится еще выше при связывании компонентов $C'1a$, 4, 2a и 3. Процесс, в результате которого антитела и молекулы комплемента делают клетки чувствительными к фагоцитозу, называется *опсонизацией* (от греч. «опсонейн» — готовить пищу для кого-либо). Опсонизирующие антитела соединяются с антигенными компонентами микробных клеток, блокирующих фагоцитоз, и таким образом нейтрализуют эти компоненты.

Фагоцитозу способствуют агглютинирующие антитела. Поскольку антитела двухвалентны, а на поверхности бактериальной клетки имеется много гаптенных групп, соединение антител с клетками в соответствующем соотношении приводит к образованию клеточных агрегатов, которые более подвержены фагоцитозу, чем одиночные клетки.

Индукция воспалительной реакции. Комплемент фиксируется не только на клетках, связанных с антителами, но и на молекулярных агрегатах, образующихся при реакции мультивалентных растворимых антигенов с антителами. Комплексы антиген — антитело, связавшиеся с компонентами 1a, 4, 2a, 3 и 5, высвобождают полипептидные фрагменты $C'3$ и $C'5$, которые вызывают выделение гистамина тучными клетками (клетки, сходные с базофилами и связанные с капиллярами и соединительными тканями); эти комплексы служат также аттрактантами для некоторых фагоцитов. Таким образом, комплексы антигенов с антителами усиливают путем активации комплемента воспалительную реакцию, вызываемую самим инфекционным процессом.

Повреждение организма хозяина в результате повышенной чувствительности, обусловленной антителами. Как мы уже говорили, первичный контакт с антигеном может привести к такому иммунному состоянию организма, при котором в нем постоянно присутствует большая популяция специфических малых лимфоцитов — «клеток памяти», готовых к делению и образованию антител в ответ на повторное введение антигена.

Однако при определенных условиях в результате первичного контакта в организме остаются не только лимфоциты — клетки памяти, но также и специфические антитела, прикрепленные к мембранам тучных клеток и базофилов. Если спустя некоторое время в организм вводятся молекулы того же антигена, они соединяются с антителами, связанными с этими клетками, и инициируют выделение огромного количества гистамина и серотонина. Эти вещества вызывают слишком сильную воспалительную реакцию, что иногда приводит к летальному исходу — так называемый *анафилактический шок*.

Когда в крови и лимфатических сосудах накапливаются комплексы антиген—антитело, на которых фиксируется компонент, возникает другой тип воспаления; в этом случае реакция так сильна, что больше вредит организму, чем защищает его. Вредное последствие такого воспаления обусловлено главным образом высвобождением лизосомных ферментов из нейтрофилов и характеризуется разрушением мелких кровеносных сосудов (васкулит). Это так называемая *реакция Артюса*, характерная для некоторых бактериальных инфекций и вызванная, как полагают, бактериальными антигенами.

Локальные поверхностные инфекции стрептококками группы А приводят к двум серьезным заболеваниям: острому гломерулонефриту, при котором поражается ткань почек, и ревматизму, при котором поражается ткань клапанов сердца. В обоих случаях противострептококковые антитела вступают в перекрестную реакцию с антигенами тканей самого хозяина (аутоиммунитет, аутоагрессия). Всякий раз, когда организм вновь подвергается действию стрептококковых антигенов, возникает повреждение.

Патологические последствия иммунной сенсibilизации называют *повышенной чувствительностью* (гиперчувствительностью). Гиперчувствительность, обуславливаемая антителами, циркулирующими в крови, считается «гиперчувствительностью быстрого типа», так как воспалительная реакция на повторное введение антигена возникает очень быстро. Гиперчувствительность, обусловленная накоплением специфически сенсibilизированных Т-клеток, относится к «замедленному типу», так как воспалительная реакция на повторное введение антигена возникает гораздо медленнее. Гиперчувстви-

тельность второго типа рассмотрена далее в разделе, посвященном клеточному иммунитету.

Устойчивость микроорганизмов к реакциям гуморального иммунитета хозяина. Как отмечалось выше, при взаимодействии с антителами и компонентами комплемента от С'1 до С'3 клетки становятся чувствительными к фагоцитозу и — в случае грамотрицательных бактерий — к лизису под действием остальных компонентов комплемента от С'5 до С'9. Однако на поверхности клеток некоторых грамотрицательных патогенных микроорганизмов образуются вещества, которые хотя и являются антигенами, но блокируют процесс опсонизации и лизис. Наиболее известные из этих веществ — К-антиген *Escherichia coli* и Vi-антиген *Salmonella typhi*. Механизм их действия был исследован в опытах, в которых эритроциты связывали с К- или Vi-антигенами, а также с антителами к целым эритроцитам и затем обрабатывали комплементом. Оказалось, что в присутствии К- или Vi-антигенов один или несколько этапов присоединения компонентов С' блокируются.

Антигенными детерминантами К- и Vi-антигенов являются кислые полисахариды клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Против этих кислых полисахаридов могут вырабатываться антитела, которые не вызывают лизиса при участии комплемента, хотя и сохраняют способность к опсонизации. Между количеством К-антигена у патогенных штаммов *E. coli* и относительной вирулентностью этих штаммов при системном заражении обнаружена четкая корреляция. В случае кишечных инфекций, когда большее значение могут иметь другие агрессивны, эта корреляция не столь достоверна

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Множество иммунных реакций осуществляется не за счет антител, которые вырабатываются В-клетками, а благодаря секреторной и непосредственной активности Т-клеток, обладающих антигенной специфичностью. Особенно наглядно это проявляется в случае генетического дефекта в образовании Т-клеток: такие организмы отличаются высокой восприимчивостью к заражению простейшими, грибами, вирусами и бактериями, размножающимися внутри клеток; у них, кроме того, нарушена способность к отторжению опухолей и трансплантатов. Однако активность чувствительных Т-клеток можно наблюдать и у нормальных иммунизированных организмов: при повторном воздействии антигена возникает воспалительная реакция патологической интенсивности. Это состояние называют «клеточной гиперчувствительностью», или гиперчувствительностью замедленного типа.

Защита от инфекции. Когда Т-клетки связываются с соответствующим антигеном, они становятся *цитотоксичными*: непосредственный контакт Т-клетки с клеткой-мишенью, не-

сущей этот антиген, приводит к гибели клетки-мишени. Проявление цитотоксической активности Т-клеток наблюдалось главным образом в экспериментальных системах, где в качестве клеток-мишеней (несущих специфические стимулирующие антигены) использовали клетки позвоночных других видов. Возможно, цитотоксичность Т-клеток играет важную роль в подавлении вирусных инфекций путем уничтожения зараженных клеток хозяина, на поверхности которых проявляются вирусные антигены.

Еще одно новое свойство, приобретаемое Т-клетками при связывании с антигеном и имеющее решающее значение для защиты хозяина от бактериальных инфекций, — способность к выделению какого-то вещества, активирующего макрофаги. Активированные макрофаги (их называют иногда антропоморфным термином «жестokie убийцы») отличаются повышенной фагоцитарной активностью и высоким содержанием лизосомных ферментов. Их способность убивать захваченные микроорганизмы *неспецифична*. В результате после выздоровления от микробной инфекции организм обладает популяцией Т-клеток, которые в дальнейшем при контакте с антигенами того же микроорганизма будут активировать макрофаги; теперь эти макрофаги становятся «жестокими убийцами» в отношении не только данного, но и других микроорганизмов.

Повреждения организма хозяина, вызванные клеточной гиперчувствительностью. Т-клетки, активированные антигеном, не только активируют макрофаги, но и привлекают их, а затем подавляют их подвижность. Поскольку сами Т-клетки устремляются к очагу инфекции, в конце концов в этом месте концентрируются и Т-клетки, и макрофаги. Выделение растворимых токсинов (лимфотоксинов) Т-клетками и лизосомных ферментов макрофагами вызывает обширный некроз ткани. Такой некроз особенно заметен в месте повреждения, возникающего вокруг туберкулезных бацилл; те же самые реакции, которые направлены против патогенных бактерий (клеточный иммунитет), обуславливают характерную патологическую картину заболевания (повышенная чувствительность клеток).

Иммунодепрессивное действие патогенных микроорганизмов. Некоторые патогенные микроорганизмы синтезируют вещества, подавляющие иммунный ответ. Эти вещества относятся к подклассу агг्रेसинов. Например, из цитоплазмы стрептококков группы А можно экстрагировать какое-то вещество, подавляющее образование у мышей антител к бараньим эритроцитам, а полисахаридный экстракт из клеток *Bordetella pertussis* снижает гиперчувствительность замедленного типа в отношении туберкулина. В последнем случае агг्रेसины, возможно, подавляют деление и/или активность лимфоцитов.

Книги

- Ajl S. et al. (eds.) (1970—1972), *Microbial Toxins*, Vols. 1—8, New York, Academic Press.
- Davis B. D., Dulbecco R., Eisen H. N., Ginsberg H. S., Wood W. B., Jr., McCarty M., 1973, *Microbiology*, 2nd ed., New York, Harper and Row.
- Rose N. R., Milgram F., Van Oss C. J. (eds.) (1973), *Principles of Immunology*, New York, Macmillan.
- Smith H. Pearce J. H. (eds.) (1972), *Microbial Pathogenicity in Man and Animals: 22nd Symposium of the Society for General Microbiology*, New York, Cambridge University Press.

Обзоры

- Burrows W. (1968), *Cholera Toxins*, *Ann. Rev. Microbiol.*, **22**, 245.
- Collier R. J. (1975), *Diphtheria Toxin: Mode of Action and Structure*, *Bacteriol. Rev.*, **39**, 54.
- Gally J. A., Edelman G. M. (1972), *The Genetic Control of Immunoglobulin Synthesis*, *Ann. Rev. Genetics*, **6**, 1.
- Hirsch J. G. (1965), *Phagocytosis*, *Ann. Rev. Microbiol.*, **19**, 339.
- Patil S. S. (1974), *Toxins Produced by Phytopathogenic Bacteria*, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **12**, 259.
- Pierce N. F., Greenough W. B., Carpenter C. C. J., Jr. (1971), *Vibrio cholerae Enterotoxin and Its Mode of Action*, *Bacter. Rev.*, **35**, 1.
- Schwab J. H. (1975), *Suppression of the Immune Response by Microorganisms*, *Bact. Rev.*, **39**, 121.
- Spector W. G., Willoughby D. A. (1963), *The Inflammatory Response*, *Bact. Rev.*, **27**, 117.

Оригинальные работы

- Gill D. M., Pappenheimer A. M., Jr., Uchida T. (1973), *Diphtheria Toxin, Protein Synthesis and the Cell*, *Fed. Proc.*, **32**, 1508.
- Klebanoff S. J. (1968), *Myeloperoxidase-Halide-Hydrogen-Peroxide Antibacterial System*, *J. Bacteriol.*, **95**, 2131.
- Krinsky N. I. (1974), *Singlet Excited Oxygen as a Mediator of the Antibacterial Action of Leukocytes*, *Science*, **186**, 363.
- Murphy J. R., Pappenheimer A. M., Jr., deBorms S. T. (1974), *Synthesis of Diphtheria Tox-Gene Products in Escherichia coli Extracts*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **71**, 11.
- Weinberg E. D. (1974), *Iron and Susceptibility to Infectious Disease*, *Science*, **184**, 952.

30 БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА, ВЫЗЫВАЕМЫЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Человек является хозяином для множества патогенных бактерий, простейших и вирусов. Кроме того, некоторые представители нормальной микрофлоры, населяющей кожу и слизистые, могут проникать в организм хозяина и вызывать заболевание, если механизмы иммунитета подавлены.

Свойства паразитов, патогенных для человека, весьма разнообразны. Как уже обсуждалось в предыдущей главе, симптомы многих бактериальных инфекций обусловлены токсинами. При заражении грибами и простейшими токсины, как правило, не образуются и патогенность этих организмов обусловлена тем, что они индуцируют реакцию повышенной чувствительности. Повышенная чувствительность играет определенную роль и при многих вирусных заболеваниях, сопровождающихся разрушением клеток вследствие размножения в них вируса.

Неодинаковы и индуцибельные механизмы, обеспечивающие устойчивость хозяина к инфекции. Основную роль в защите организма от многих патогенных бактерий играют антитела, циркулирующие в крови, но, видимо, при инфекциях другого типа они не так важны. В то же время клеточный иммунитет имеет решающее значение в обеспечении устойчивости хозяина к грибам и вирусам. Эти выводы были сделаны исходя из результатов обследования больных с различными формами иммунной недостаточности, имеющей генетическое происхождение или вызванной применением иммунодепрессивных препаратов. Так, больные, у которых нарушен синтез циркулирующих в крови антител, весьма восприимчивы к респираторным инфекциям, вызываемым грамположительными бактериями; больные с недостаточной функцией Т-клеток отличаются высокой восприимчивостью к заражению грибами и вирусами, а также теми бактериями, которые размножаются внутри клеток (например, возбудителями туберкулеза и бруцеллеза). Что касается заболеваний, вызываемых простейшими, то данных, позволяющих оценить относительный вклад гуморального (антител) и клеточного иммунитета в резистентность макроорганизма, пока недостаточно.

В настоящей главе мы опишем некоторые важнейшие болезни человека, вызываемые микроорганизмами, и на их примере проиллюстрируем разнообразие механизмов, лежащих в основе взаимоотношений хозяина и возбудителя.

Бактерии, являющиеся облигатными паразитами человека, сохраняются в природе благодаря тому, что передаются от одного индивидуума к другому. В процессе эволюции у облигатных паразитов возникли специфические способы выхода из организма хозяина, переноса и проникновения в организм хозяина. В следующих разделах мы классифицируем бактериальные болезни по способу их передачи, поскольку такая классификация объединяет главным образом экологически родственные патогенные микроорганизмы.

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ С ПИЩЕЙ И ВОДОЙ, ЗАГРЯЗНЕННЫМИ ФЕКАЛИЯМИ

Кишечный тракт — естественное местообитание для многих видов бактерий, и большинство из них при обычных условиях безвредны. Однако ряд обитателей кишечника — опасные патогенные микробы; к ним относятся возбудители брюшного тифа и паратифа, дизентерии, холеры и сальмонеллезов (последние часто неправильно называют «бактериальными пищевыми отравлениями»). Некоторые возбудители вызывают повреждение, оставаясь в кишечнике (действуют локально), другие распространяются в организме. Однако все они обладают двумя общими свойствами: покидают организм хозяина с фекалиями, а в кишечник следующего хозяина проникают в конечном счете через рот.

Таким образом, при этих так называемых *кишечных инфекциях* заражение происходит через пищу или воду, загрязненные фекалиями. До введения современных санитарных норм источники воды постоянно загрязнялись сточными водами из несовершенных систем канализации. В настоящее время такое загрязнение стало редкостью, и большее значение приобрели другие пути переноса инфекции. Эффективный переносчик — обычная комнатная муха, так как она садится и на фекалии, и на пищу. Кроме того, значительно возросло число здоровых носителей кишечных патогенных бактерий и уменьшилось число явных клинических случаев заболевания, поэтому, вообще говоря, каждый, кто прикасается к пище, является потенциальным источником инфекции. Предупредить распространение кишечных заболеваний может только самый строгий контроль за личной гигиеной всех, кто производит пищевые продукты.

Многие животные, в том числе крупный рогатый скот и домашняя птица, являются носителями бактерий рода *Salmonella*, которые вызывают кишечные инфекции. Человек может заразиться, питаясь мясом или яйцами этих животных и птиц.

Некоторые наиболее серьезные бактериальные болезни, передаваемые с пищей и водой, загрязненными фекалиями, описаны в табл. 30.1.

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ПУТЕМ КАПЕЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Передачу возбудителя через дыхательные пути принято называть *капельной инфекцией*, так как в этом случае микроорганизмы передаются от одного индивидуума к другому с микроскопическими капельками слюны, выделяемыми при дыхании. В странах, где санитарные условия отвечают современным требованиям, именно капельная инфекция является одним из основных путей распространения болезни. Когда человек чихает, кашляет и даже просто громко говорит, он выдыхает мельчайшие капельки слюны. Каждая капелька содержит немного растворенного белка и микроорганизмы, обитающие в полости рта и в дыхательных путях; капельки быстро испаряются, и в воздухе остается огромное число крошечных комочков белка, содержащих живые бактерии. Больной с респираторной инфекцией неизбежно передаст возбудителей любому человеку, в присутствии которого он кашляет, чихает или разговаривает. Единственный способ предупредить распространение инфекции — добиться, чтобы все носили маски с фильтрами. Эту крайнюю меру очень редко удается осуществить, поэтому в многонаселенном городе такая инфекция, как грипп, начавшись у одного больного, может за 6—8 недель охватить несколько миллионов людей.

Инфекция дыхательных путей и капельный способ ее передачи лежат в основе многих серьезных заболеваний (табл. 30.2).

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ПРИ НЕПОСРЕДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ

Существуют немногочисленные патогенные микроорганизмы, которые проникают через кожу или слизистые и перенос которых возможен лишь при непосредственном контакте. К этой группе относятся возбудители венерических болезней — сифилиса и гонореи. В обоих случаях возбудитель не способен долго существовать вне организма хозяина, и для его переноса необходим непосредственный контакт слизистых. Поэтому эти заболевания передаются главным образом при половом сношении, хотя сифилис может передаваться ребенку от больной матери еще до рождения (внутриутробно), а гонорея — во время родов.

В тропических странах распространены тяжелые заболевания, возбудители которых сходны с возбудителем сифилиса, но передаются обычно не при половом сношении. Все они начинаются как кожные инфекции, и для их передачи необходим непосредственный контакт. В качестве примера заболеваний этой группы можно назвать фрамбезию.

ТАБЛИЦА 30.1

НЕКОТОРЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ЧЕРЕЗ ПИЩУ И ВОДУ, ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ФЕКАЛИЯМИ

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Брюшной тиф	<i>Salmonella typhi</i> (<i>S. typhosa</i>); грамположительная палочка с перитрихально расположенными жгутиками	Вначале бактерии размножаются в желудочно-кишечном тракте. Затем попадают в кровоток через лимфатические пути и разносятся по всему организму. Интенсивный рост происходит в желчных путях, откуда бактерии снова попадают в кишечник. Возникают очаги поражения в легких, костном мозге и селезенке
Воспалительные заболевания кишечника, гастроэнтерит, сальмонеллез (пищевая токсикоинфекция)	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>S. schottmüller</i> , <i>S. choleraesuis</i> ; грамотрицательные палочки с перитрихально расположенными жгутиками	Воспалительные заболевания кишечника; характеризуются широким распространением возбудителя по всему организму. Воспалительные заболевания, вызываемые сальмонеллами (кроме <i>S. typhi</i>), протекают в более легкой форме, чем брюшной тиф, и называются паратифами. При гастроэнтерите сальмонеллы остаются в желудочно-кишечном тракте. <i>S. typhimurium</i> является наиболее частым возбудителем гастроэнтерита в США. Сальмонеллезный сепсис чаще всего вызывает <i>S. choleraesuis</i>
Холера	<i>Vibrio cholerae</i> ; грамотрицательная изогнутая палочка с полярно расположенными жгутиками. Факультативный анаэроб; осуществляет кислотное брожение смешанного типа (см. гл. 20)	Возбудитель интенсивно размножается в тонком кишечнике. Экзотоксин действует на клетки слизистой; потеря воды и солей приводит к шоку
Бактериальная дизентерия	<i>Shigella dysenteriae</i> ; грамотрицательная неподвижная палочка. Факультативный анаэроб; осуществляет кислотное брожение смешанного типа (см. гл. 20)	Поражается дистальный отдел подвздошной кишки и толстый кишечник. Симптомы: боли в животе, частый стул, повышение температуры

ТАБЛИЦА 30.2

НЕКОТОРЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ КАПЕЛЬНЫМ ПУТЕМ

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Дифтерия	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ; грамположительная неподвижная палочка, обычно с утолщением на конце. Движение клеток после деления приводит к характерной укладке их в виде частокола. Факультативный анаэроб; осуществляет пропионовокислородное брожение (см. гл. 23)	Возбудитель поселяется в зеве и остается в верхних дыхательных путях. Продуцирует экзотоксин, который разносится с кровью по всему организму. Местный воспалительный процесс сопровождается образованием пленок, которые иногда блокируют дыхательные пути
Туберкулез	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ; плеоморфная, неподвижная, кислотоустойчивая палочка. Облигатный аэроб (см. гл. 23)	Бактерия размножается как внутри, так и вне клеток в пораженных участках легких, образуя так называемый туберкулезный бугорок. Увеличиваясь, бугорок иногда «прорывается» в бронх, что ведет к распространению поражения на другие части легких, а также к передаче инфекции другим людям капельным путем. В более редких случаях бактерии распространяются током крови и образуют вторичные (метастатические) очаги в других органах. Токсины <i>M. tuberculosis</i> не идентифицированы; по крайней мере некоторые из повреждений организма хозяина обусловлены реакциями гиперчувствительности замедленного типа
Чума	<i>Yersinia pestis</i> ; грамотрицательная неподвижная маленькая палочка. Факультативный анаэроб; осуществляет кислотное брожение смешанного типа (см. гл. 20)	Чума — болезнь домашних и диких грызунов; передается человеку при укусе блохи. Существует так называемая «бубонная чума», характеризующаяся резким увеличением лимфатических узлов (бубоны). В тяжелых случаях возбудитель распространяется на другие органы; если поражаются легкие, болезнь передается непосредственно от человека к человеку путем капельной инфекции. Эта форма называется легочной чумой и отличается высокой контагиозностью

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Менингококковый менингит	<i>Neisseria meningitidis</i> (менингококк); грамотрицательные неподвижные кокки, образующие пары (см. гл. 19)	Менингококки нередко (у 25% населения) присутствуют в носоглотке здоровых людей-носителей. По неизвестной причине они иногда проникают в кровяное русло и оседают в оболочках мозга
Стрептококковые инфекции	<i>Streptococcus pyogenes</i> ; В-гемолитические, грамположительные кокки, растущие цепочками. Осуществляют молочнокислое гомоферментативное брожение	Вначале бактерии размножаются в зева. Штаммы, содержащие определенный бактериофаг, образуют эритрогенный токсин; при повышенной чувствительности к этому токсину появляется кожная сыпь; такое заболевание называется <i>скарлатиной</i> . Распространяясь в организме, стрептококк способен вызывать мастоидит, перитонит, послеродовой сепсис, рожистое воспаление. Рецидивирующий стрептококковый фарингит нередко осложняется ревматизмом, что сопровождается появлением в крови антител (в высоком титре) к стрептококковым антигенам. Из ткани сердца, поражаемого при ревматизме, возбудителя выделить не удается; в основе поражения, по-видимому, лежит иммунная реакция
Пневмококковая пневмония	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (пневмококк); грамположительные кокки, обычно образующие диплококки. Осуществляют гомоферментативное молочнокислое брожение	От 40 до 70% взрослого населения являются носителями пневмококка. При нарушении нормальных защитных механизмов (например, при вирусной инфекции дыхательных путей) бактерии из зева проникают в легкие
Другие респираторные инфекции	<i>Hemophilus influenzae</i> ; <i>Bordetella pertussis</i> ; мелкие грамотрицательные неподвижные палочки. Виды <i>Hemophilus</i> нуждаются для роста в гематине и никотинамид-нуклеозиде	<i>H. influenzae</i> вызывает респираторные инфекции у детей и является также самым распространенным возбудителем бактериального менингита. <i>B. pertussis</i> вызывает коклюш, редко проникая через слизистую дыхательных путей, не распространяется по организму

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Сибирская язва	<i>Bacillus anthracis</i> ; грамположительная спорообразующая неподвижная палочка. Облигатный анаэроб (см. гл. 22)	Сибирская язва поражает домашних и диких животных, в том числе млекопитающих, птиц и пресмыкающихся. Человек заражается при непосредственном контакте, когда бактерия проникает в организм через небольшие повреждения кожи. На месте заражения возникает пустула (при кожной форме сибирской язвы), затем может развиваться сепсис со смертельным исходом
Туляремия	<i>Francisella tularensis</i> , короткая, неподвижная грамотрицательная палочка	Туляремия, впервые описанная в Тулэр Каунти (Калифорния), — природная болезнь диких грызунов. Человек обычно заражается, работая с тушками и шкурами животных, хотя болезнь может передаваться также и при укусе членистоногих (клещи и другие насекомые). Бактерии распространяются по лимфатическим и кровеносным путям; поражаются легкие, печень, селезенка и мозг. Возбудитель размножается главным образом внутриклеточно
Бруцеллез	<i>Brucella melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. suis</i> ; мелкие грамотрицательные неподвижные палочки	Все три вида способны заражать широкий спектр хозяев-млекопитающих, хотя для каждого вида есть предпочтительный хозяин: для <i>B. melitensis</i> — коза, для <i>B. abortus</i> — крупный рогатый скот, для <i>B. suis</i> — свинья. У крупного рогатого скота бактерии локализуются в матке стельных животных (что часто приводит к выкидышу); такая локализация обусловлена специфической стимуляцией роста бактерий эритрогеном, который содержится только в уязвимой ткани хозяина. У человека бактерии широко распространяются по всему организму; размножаются преимущественно в фагоцитах. Болезнь может давать периодические рецидивы (ундулирующая лихорадка)

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Гонорея	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (гонококк); грамотрицательная бактерия, клетки группируются парами (см. гл. 19)	Возбудитель передается через половые пути. Проникая в слизистую, вызывает острое заболевание половых органов, нередко переходящее в хроническое; возможное осложнение — сепсис. Служит причиной тяжелого заболевания глаз у новорожденных, связанного с заражением при родах
Сифилис	<i>Treponema pallidum</i> , спирохета (см. гл. 5)	Возбудитель передается через половые пути. Возможно также внутриутробное заражение плода. После полового заражения возникает локальное воспаление в области наружных половых органов — твердый шанкр (первичный сифилис). Вторичный сифилис проявляется через несколько недель заболеванием глаз, костей, суставов и центральной нервной системы. Если болезнь не лечить, то спустя несколько лет возникают характерные для третичного сифилиса поражения клапанов сердца, центральной нервной системы, глаз, костей и кожи. Токсины трепонемы не идентифицированы. Предполагается, что проявления третичного сифилиса частично или полностью обусловлены гиперчувствительностью замедленного типа

Еще три не венерические болезни, передаваемые при непосредственном контакте, — сибирская язва, туляремия и бруцеллез. Ими болеют животные, но не исключена и передача человеку. Бруцеллез — болезнь, распространенная среди коз, крупного рогатого скота и свиней, — представляет большую опасность для тех, кто работает с животными: ветеринаров, рабочих мясной и молочной промышленности. Туляремия — болезнь диких грызунов — часто передается охотникам и людям, которые имеют дело с тушками диких животных. Основные бактериальные заболевания, передаваемые при непосредственном контакте, описаны в табл. 30.3.

БОЛЕЗНИ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ЖИВОТНЫМИ-НОСИТЕЛЯМИ

Некоторые патогенные микроорганизмы в ходе эволюционного развития приобрели способность к существованию в двух и более хозяевах. Например, бацилла чумы может размножаться в организме крысы, блохи и человека; блохи переносят ее от грызуна к грызуну или от грызуна к человеку,

и этот возбудитель никогда не находится в условиях, непригодных для роста.

Единственные настоящие бактерии в этой группе — возбудители чумы и туляремии; кроме них животными переносятся многие вирусы, риккетсии, простейшие и спирохеты. Эпидемии малярии, желтой лихорадки, бешенства, сыпного тифа и чумы, распространяющиеся таким образом, заметно влияли на ход истории человечества. Однако само наличие альтернативных хозяев, дающее паразитам ряд преимуществ, привело со временем к тому, что человек стал контролировать их распространение. Уничтожая переносчика (вид, который осуществляет перенос патогенного микроорганизма) или *резервуар инфекции* (виды, из которых переносчик черпает инфекцию), удалось искоренить эти болезни во многих районах земного шара.

Основные заболевания, передаваемые при укусе животных, а также переносчики и резервуары инфекций перечислены в табл. 30.4.

ТАБЛИЦА 30.4

НЕКОТОРЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ПРИ УКУСЕ ЖИВОТНОГО

Экология (роль человека)	Заболевание	Тип микроорганизма	Переносчик	Природный резервуар
Человек — случайный хозяин, не являющийся резервуаром инфекции	Чума	Бактерия	Блохи	Крысы, другие грызуны
	Туляремия	»	Клещи	Дикie грызуны, клещи ¹
	Бешенство	Вирус	Собаки, шакалы, летучие мыши и т. п.	Те же животные, что и переносчики
	Эндемический сыпной тиф ²	Риккетсия	Блохи	Крысы
	Пятнистая лихорадка	»	Клещи	Дикie грызуны
Человек — один из двух или более резервуаров инфекции	Скалистых гор Африканская сонная болезнь	Простейшее	Муха цеце	Человек, дикie животные
	Желтая лихорадка	Вирус	Комары	Человек, обезьяны
	Возвратный тиф	Спирохета	Вши, клещи	Человек, клещи ¹ , грызуны
Человек — единственный резервуар инфекции	Малярия	Простейшее	Комары	Человек
	Эпидемический сыпной тиф ²	Риккетсия	Вши	»
	Лихорадка денге	Вирус	Комары	»

¹ Клещи служат одновременно переносчиком и резервуаром инфекции, так как микроорганизмы размножаются в теле клеща и переносятся через яичники и яйца от одного поколения клещей к другому.

² Два типа сыпного тифа вызываются близкородственными видами риккетсий.

Потребление в пищу продуктов, которые содержат токсин, вырабатываемый *Clostridium botulinum* или *Staphylococcus aureus*, приводит к опасным заболеваниям. Сам больной не является распространителем болезни, но если загрязнено большое количество пищи, вспышка может затронуть многих людей. До введения в консервной промышленности строгого санитарного контроля ежегодно от ботулизма умирало большое число людей. Причиной вспышек пищевых токсикоинфекций и до сих пор нередко служат открытые стафилококковые поражения кожи у работников пищевой промышленности.

РАНЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ

При попадании в рану чужеродного нестерильного материала в нее неизбежно проникают микроорганизмы. Если условия благоприятствуют их росту, возникает инфекция, которая может со временем распространиться по кровеносным и лимфатическим путям.

Проникновение микроорганизмов в рану нельзя считать «естественным» путем заражения, так как оно происходит слишком редко и нерегулярно, чтобы обеспечить поддержание паразита. Чаще всего в зараженных ранах обнаруживаются обычные почвенные микроорганизмы, например клостридии. Клостридии — облигатные анаэробы, в здоровых тканях они не растут. Однако глубокие раны представляют для них идеальную среду, поскольку там имеются омертвевшие (некротизированные) ткани, нет доступа воздуха, а снабжение кислородом понижено из-за нарушения кровообращения. Споры клостридий настолько широко распространены в природе, что любая глубокая рана, в которую попадают кусочки одежды или почва, почти неизбежно заражается тем или иным видом *Clostridium*. Многие из этих микроорганизмов продуцируют сильнодействующие экзотоксины, которые убивают окружающие ткани хозяина. Один из видов — *C. tetani* — продуцирует токсин, поражающий нервные ткани и вызывающий спазмы мышц; в отсутствие лечения заражение почти неизбежно приводит к смерти. Это заболевание называется столбняком. Другие клостридии вызывают серьезные локальные повреждения в месте заражения (гангрена).

Хотя клостридии — самые опасные из патогенных микроорганизмов, проникающих в раны, ими не исчерпывается перечень бактерий, обитающих в ранах. К обычным микроорганизмам такого рода относятся стафилококки, стрептококки, энтеробактерии и псевдомонады.

Лептоспироз, также являющийся результатом раневых инфекций, — профессиональное заболевание рабочих, часто имеющих дело с загрязненной водой. Лептоспира — паразит

Заболевание	Возбудитель	Патогенез
Столбняк	<i>Clostridium tetani</i> ; грамположительная спорообразующая палочка с перитрихально расположенными жгутиками. Облигатный анаэроб (см. гл. 22)	<i>C. tetani</i> — распространенный почвенный микроорганизм; он также обычно присутствует в фекалиях животных (но не человека). Случайно попав в рану, вызывает заболевание. Для образования спор и роста необходимы анаэробные условия, которые возможны при некрозе и повреждении сосудов. Образует нейротоксин, который с током крови и по периферическим нервам переносится к спинному мозгу, где поражает главным образом клетки передних рогов
Газовая гангрена	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. septicum</i> ; грамположительные, спорообразующие палочки с перитрихально расположенными жгутиками. Облигатные анаэробы (см. гл. 22)	Размножение бактерий в анаэробных условиях (в ране) сопровождается накоплением газообразного водорода, образующегося при брожении. Выделяется ряд растворимых токсинов, в том числе α -токсин <i>C. perfringens</i> (лецитиназа)
Лептоспироз	<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i> , <i>L. canicola</i> , <i>L. pomona</i> ; спирохеты (см. гл. 5)	Эти лептоспиры вызывают вялотекущее, хроническое заболевание у грызунов и домашних животных, которые постоянно выделяют бактерии с мочой. Человек заражается при контакте с водой, загрязненной мочой этих животных; заражение происходит через кожу. В фазе диссеминации возбудитель удаётся выделить при посеве крови

свиней, собак и грызунов, она выделяется с мочой животных. Человек может заразиться только через небольшие поранения или ссадины в коже, и это заболевание наиболее распространено у людей, работающих в условиях повышенной влажности. В табл. 30.5 описаны распространенные раневые инфекции.

РИККЕТСИОЗЫ

Риккетсии — это мельчайшие бактерии, облигатные внутриклеточные паразиты (см. гл. 5).

Одно из отличительных свойств риккетсий состоит в том, что они являются паразитами членистоногих (вшей, блох и клещей). Это их естественные хозяева, в которых они обитают, не вызывая заболевания. Кроме того, риккетсии приспособ-

ТАБЛИЦА 30.6
НЕКОТОРЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ РИККЕТСИЯМИ

Заболевание	Резервуар, переносчики, пути заражения	Примечания
Эпидемический сыпной тиф	Возбудитель переносится от человека к человеку головной вошью	Высокая смертность
Эндемический сыпной тиф	В естественных условиях возбудитель является паразитом крыс и блох. Поддерживается в природе вследствие наличия цепи передачи крыса — блоха — крыса. Эта форма сыпного тифа может давать эпидемическую вспышку, поддерживаемую цепью переноса человек — вошь — человек	Более легкое заболевание, чем эпидемический сыпной тиф. Возбудители эпидемического и эндемического сыпного тифа — разные, хотя и близкородственные риккетсии
Лихорадка цугамуши	Истинный природный резервуар — клещи; риккетсии переносятся от одного поколения клещей к другому через яйца. Передаются также крысам при укусе членистоногих; таким образом, крысы — вторичный резервуар. Человек заражается при укусе клещей или блох	Встречается только на Дальнем Востоке
Пятнистые лихорадки	Возбудители являются паразитами клещей, они передаются от одного поколения клещей к другому через яйца. Передаются также ряду хозяев-млекопитающих, в том числе грызунам и домашним животным, которые, следовательно, образуют вторичный резервуар. Человек заражается при укусе клеща	Существует ряд близкородственных заболеваний этого типа, распространенных в разных районах земного шара (например, пятнистая лихорадка Скалистых гор, марсельская лихорадка, южноафриканская клещевая лихорадка)
Риккетсиозная оспа	Резервуарами являются домовая мышь и обитающие на ней клещи; человек заражается при укусе клеща	Риккетсии — возбудители этого заболевания — в антигенном отношении родственны возбудителям заболеваний группы пятнистых лихорадок. Риккетсиозная оспа встречается только в городах
Лихорадка Q	Возбудитель — паразит множества диких животных и клещей; последние переносят возбудитель козам, овцам и крупному рогатому скоту. Человек заражается, если вдыхает зараженную пыль, пьет зараженное молоко или контактирует непосредственно с животными или продуктами животноводства	Единственное риккетсиозное заболевание, которое передается человеку не через укус членистоногого

собились к хозяевам-млекопитающим, передаваясь им при укусе членистоногого. Таким образом, возникает цепь переноса риккетсий членистоногое—млекопитающее—членистоное. В большинстве случаев человек является случайным хозяином, он не входит в эту цепь; единственное исключение — сыпной тиф, возбудитель которого переносится вшами. Основные риккетсиозы человека описаны в табл. 30.6.

БОЛЕЗНИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ХЛАМИДИЯМИ

Хламидии, подобно риккетсиям, являются облигатными внутриклеточными паразитами птиц и млекопитающих (см. гл. 5). У своих природных хозяев они обычно вызывают длительные латентные инфекции; острое заболевание более характерно для тех случаев, когда инфекция передается хозяином другого вида.

Хламидии вызывают у человека четыре болезни: пситтакоз (орнитоз), венерическую лимфогранулему и заболевания глаз — трахому и инклюзионный конъюнктивит. Последние вызываются близкородственными организмами, которые от-

ТАБЛИЦА 30.7

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ХЛАМИДИЯМИ

Заболевание	Возбудитель	Основной способ передачи	Патогенез
Пситтакоз	<i>Chlamydia psittaci</i>	Попадание частичек фекалий зараженных птиц (многих видов) с пылью	Воспаление легких; повышение температуры. В отсутствие лечения летальность достигает 20%
Венерическая лимфогранулема	<i>C. trachomatis</i> (изредка <i>C. psittaci</i>)	Половое сношение	Поражения кожи и увеличение регионарных лимфатических узлов
Трахома	<i>C. trachomatis</i>	Механическое загрязнение пальцами или зараженными предметами	Поражаются ткани, окружающие глаз, и ткани самого глаза; возможна слепота
Инклюзионный конъюнктивит (образование особых телец-включений)	<i>C. trachomatis</i>	Новорожденные дети заражаются, проходя через родовые пути матери. Взрослые заражаются при половом контакте и последующем переносе возбудителя на глаза пальцами	Воспаление конъюнктивы

носятся к *Chlamydia trachomatis*. Возбудитель конъюнктивита обычно обитает в половых путях, откуда случайно попадает в глаз, а возбудитель трахомы — в тканях самого глаза и окружающих его тканях.

Основные болезни человека, вызываемые хламидиями, описаны в табл. 30.7.

ГРИБКОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Грибковые заболевания у людей — это либо микозы, которые являются результатом истинного заражения, либо токсикозы, вызванные попаданием в организм токсичных продуктов метаболизма грибов.

МИКОЗЫ

Путем истинной инфекции способны вызывать заболевания у человека лишь немногие грибы. В большинстве случаев они проникают в ткани хозяина случайно: обычное местообитание грибов — почва. Исключение составляют *дерматофиты*, живущие в эпидермисе, волосах и ногтях; они передаются от человека к человеку или от животного к человеку.

Никаких токсинов, играющих заметную роль в патогенезе микозов, до сих пор не обнаружено, поэтому считается, что поражения организма хозяина при грибковых инфекциях обусловлены в первую очередь гиперчувствительностью замедленного типа (реакция клеточного иммунитета). Для грибковых заболеваний характерно образование локальных повреждений, сходных с классической реакцией гиперчувствительности замедленного типа при туберкулезе; в этих очагах происходит медленный рост гиф гриба. Распространение инфекции в организме обычно осуществляется одноклеточными дрожжевыми формами, выживающими внутри фагоцитов.

Грибковые заболевания, как правило, классифицируют в зависимости от того, на какой глубине в организме они развиваются. По этому признаку их можно разделить на три группы: *дерматомикозы*, *подкожные микозы* и *глубокие, или системные, микозы*.

ДЕРМАТОМИКОЗЫ

Чешуйчатые кольцеобразные поражения кожи, вызываемые дерматофитами, называют *tinea* (лат. слово, обозначающее личинки червей или насекомых, так как раньше считалось, что эти заболевания вызывают черви или вши). Обычно дерматомикозы классифицируют в зависимости от того, какую часть тела они поражают: *tinea pedis* — грибковое заболевание стоп (стопа атлета); *tinea capitis* — заболевание волосистой части головы; *tinea corporis* — гладкой кожи. Большинство дерматомикозов вызывают грибы трех родов: *Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidermophyton*. Гриб *Trichophyton* пора-

жает волосы, кожу и ногти, *Microsporum* — только волосы и кожу, а *Epidermophyton* — кожу и иногда ногти.

Эти микроорганизмы переносятся при непосредственном контакте или через чешуйки эпидермиса, остающиеся на ножницах. Еще один очаг инфекции — животные. Например, 30% собак и кошек в США являются носителями *M. canis* — микроорганизма, который может вызвать у человека заболевание кожи головы.

ПОДКОЖНЫЕ МИКОЗЫ

Эти инфекции начинаются с проникновения обитающих в почве грибов под кожу вместе с колючками, занозами или при загрязнении ран. Возникающие заболевания делятся на три категории. *Споротрихоз*, сопровождающийся появлением язв на коже (его вызывает гриб *Sporotrichum schenkii*, похожий на дрожжи). *Хромобластомикоз*, характеризующийся образованием ран на коже, содержащих темно-коричневые дрожжевые клетки (его могут вызывать несколько видов грибов). *Мадуромикоз*, при котором поражаются все ткани конечностей; его также могут вызывать грибы нескольких видов и различные актиномицеты.

СИСТЕМНЫЕ МИКОЗЫ

Некоторые немногочисленные виды грибов вызывают глубокие поражения зараженного органа или повреждения, рассеянные по всему организму. К ним относятся четыре вида грибов, обитающих в почве, — *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* и *Cryptococcus neoformans*, а также безвредные в обычных условиях обитатели организма человека, например *Candida albicans*. Последние становятся опасными только при подавлении обычных защитных систем макроорганизма, например в тех случаях, если обычная микрофлора подавлена вследствие применения антибиотиков, если для лечения применяли иммунодепрессанты или если организм сильно ослаблен после серьезной болезни. Основные системные микозы описаны в табл. 30.8.

ТОКСИКОЗЫ

Многие грибы продуцируют ядовитые вещества, *микотоксины*, которые вызывают серьезные заболевания, иногда с летальным исходом. Кроме того, они продуцируют различные галлюциногены, например лизергиновую кислоту. К опасным для человека микотоксинам относятся токсины, продуцируемые ядовитыми грибами, например *Claviceps purpurea* (спорынья, патогенный паразит ржи), а также *афлатоксины*, продуцируемые грибом *Aspergillus flavus*, который растет на самых разных растительных субстратах. Плохо просушенные арахис или зерновые могут содержать достаточное количество афлатоксинов, чтобы вызвать серьезное поражение печени.

ТАБЛИЦА 30.8

НЕКОТОРЫЕ ВАЖНЫЕ СИСТЕМНЫЕ МИКОЗЫ

Возбудитель	Морфология	Патогенез	Эпидемиология
<i>Candida albicans</i>	В тканях и выделениях — овальные почкующиеся дрожжевые клетки размером 2—6 мкм. В толще агара растут в виде псевдомицелия, состоящего из слипающихся продолговатых почкующихся клеток. На поверхности растут в виде почкующихся форм	<i>Candida</i> — безвредный представитель нормальной флоры слизистых дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и женских половых путей. У ослабленных больных может вызывать прогрессирующее системное заболевание или местные поражения кожи, слизистой полости рта, влагалища или легких	Большинство людей являются носителями возбудителя. Для предупреждения заболевания необходимо поддерживать нормальные защитные механизмы хозяина, в том числе нормальную микрофлору. Заболевание обычно развивается после подавления нормальной микрофлоры при лечении антибиотиками
<i>Cryptococcus neoformans</i>	В тканях и спинномозговой жидкости — сферические или овальные почкующиеся инкапсулированные дрожжевые клетки размером 5—12 мкм. На агаре — только дрожжевые клетки; мицелий не образуется	Заражение происходит через дыхательные пути. Клиническое проявление — чаще всего хронический менингит, который может сопровождаться поражениями кожи и легких. В отсутствие лечения неизбежен летальный исход	Основной источник инфекции — фекалии птиц. От человека к человеку не передается
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	В тканях — толстостенные почкующиеся клетки сферической формы размером 8—15 мкм. На агаре: при 37° — клетки сферической формы, при 25°С — нитчатые клетки	Инфекция может ограничиваться легкими или широко распространяться, поражая кожу, кости, внутренние органы и мозговые оболочки. Повреждения представляют собой небольшие абсцессы и грануломы в виде бугорков (скопления макрофагов)	<i>Blastomyces</i> , обитает в почве и проникает в организм человека при вдыхании пыли. От человека к человеку не передается

Возбудитель	Морфология	Патогенез	Эпидемиология
<i>Histoplasma capsulatum</i>	В тканях — овальные почкующиеся дрожжевые клетки размером 2—4 мкм. На агаре: при 37°C — дрожжевые клетки, при 25°C — нитчатая форма с бугорками, содержащими споры	Заболевание обычно остается локализованным в легких, но в редких случаях распространяется по всему организму, вызывая повреждения в тканях в виде бугорков	Возбудитель обитает в почве и интенсивно размножается в фекалиях птиц (в курятниках) и помете летучих мышей (в пещерах). Проникает в организм при вдыхании зараженной пыли. От человека к человеку не передается
<i>Coccidioides immitis</i>	В тканях или в гное — толстостенные сферические образования размером 15—75 мкм, наполненные эндоспорами. На агаре — мицелий с артросторами в форме бочонков	Респираторная инфекция, напоминающая грипп. Изредка болезнь прогрессирует, распространяется по всему организму и напоминает туберкулез; поражаются все органы и нервная система	<i>Coccidioides</i> встречается только в почве и у грызунов на Юго-Западе США. Заражение происходит при вдыхании зараженной пыли. От человека к человеку не передается
<i>Geotrichum candidum</i>	В мокроте — прямоугольные артросторы размером 5×10 мкм или толстостенные овальные дрожжевые клетки. На агаре — мицелий с артросторами	Хронический бронхит или поражение слизистой рта	Естественное местообитание неизвестно; возможно, полость рта и кишечный тракт человека

В США и многих других странах строгие стандарты изготовления и хранения пищевых продуктов в сочетании с введением норм на максимальные допустимые дозы токсинов в пищевых продуктах позволили практически искоренить заболевания, вызываемые афлатоксинами, однако в Индии и ряде районов Африки этот вопрос все еще представляет собой серьезную нерешенную проблему.

Структурные формулы некоторых афлатоксинов приведены на рис. 30.1. Было показано, что афлатоксины связываются с ДНК и подавляют синтез РНК; кроме того, они являются потенциальными канцерогенами и вызывают гепатомы у подопытных животных. Действительно, наблюдается четкая

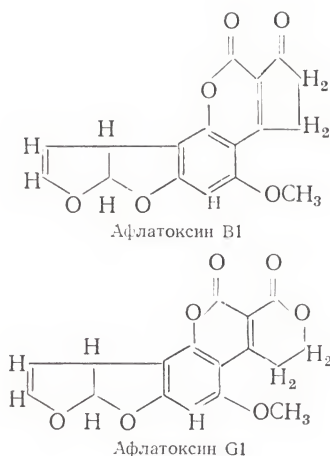


Рис. 30.1. Структурные формулы некоторых афлатоксинов.

корреляция между заболеваемостью раком печени и интоксикацией населения афлатоксинами.

БОЛЕЗНИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ПРОСТЕЙШИМИ

Из многих тысяч видов простейших заболевания у человека вызывают всего лишь примерно 20, однако вред, наносимый ими здоровью людей во всем мире, огромен. Подсчитано, что одновременно примерно четвертая часть человечества страдает от тяжелых болезней, вызываемых простейшими. Одна только малярия составляет более 100 млн. случаев в год, из них 1 млн. имеет летальный исход. Паразитические простейшие вызывают заболевания не только у человека, но и у животных, в частности у крупного рогатого скота, что косвенно является одной из причин недоедания населения в Африке.

Патогенные микроорганизмы встречаются во всех четырех основных таксономических группах простейших; главные из них перечислены в табл. 30.9. В последующих разделах болезни, вызываемые простейшими, сгруппированы по способам их передачи, не менее разнообразным, чем для бактерий.

БОЛЕЗНИ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ЦИСТАМИ

В каждой из основных групп простейших есть патогенные микроорганизмы, которые передаются в виде цист (покоящихся клеток с плотными стенками), попадающих в организм с пищей. Четыре из них являются паразитами желудочно-кишечного тракта; это *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli* и виды *Isospora*. У них сравнительно простой жизненный цикл, состоящий из стадии деления (вегетативные формы — *трофозоиты*) и стадии цист. Цисты вы-

ТАБЛИЦА 30.9

НЕКОТОРЫЕ ВАЖНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ПРОСТЕЙШИМИ

Таксономическая группа	Возбудитель	Заболевание	Основной способ передачи и переносчики
Жгутиковые	<i>Giardia lamblia</i>	Диарея, вызываемая жгутиковыми	С пищей, загрязненной фекалиями, содержащими цисты
	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Инфекции мочеполовых путей	Половое сношение
	<i>Trypanosoma gambiense</i>	Сонная болезнь (африканская)	Муха цеце
	<i>T. rhodesiense</i>		
	<i>T. cruzi</i>	Болезнь Чагаса (американская)	Клопы из сем. Triatomidae
	<i>Leishmania donovani</i>	Кала-азар (поражение селезенки, печени, лимфатических узлов, костного мозга)	Москиты (<i>Phlebotomus</i>)
	<i>L. tropica</i>	Поражение кожных покровов	То же
	<i>L. braziliensis</i>	Поражение носоглотки	» »
Амебы	<i>Entamoeba histolytica</i>	Амебная дизентерия; поражаются печень, селезенка, мозг	С пищей, загрязненной фекалиями, содержащими цисты
	<i>Naegleria sp.</i>	Амебный менингоэнцефалит	Проникновение через слизистые
Инфузории	<i>Balantidium coli</i>	Балантидийная дизентерия (балантидиаз)	С пищей, загрязненной фекалиями, содержащими цисты
Споровики	<i>Plasmodium falciparum</i>	Малярия, гемоглобинурия	Самки комаров <i>Anopheles</i>
	<i>P. vivax</i>		
	<i>P. malariae</i>	Малярия	
	<i>P. ovale</i>		
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Поражение всего организма, особенно ретикуло-эндотелиальной системы	Заражение плода через плаценту (врожденная инфекция); вдыхание или заглатывание цист
	<i>Isospora belli</i>	Кишечные инфекции	Заглатывание цист
	<i>I. hominis</i>		

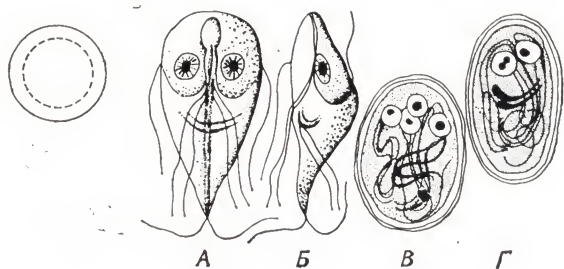


Рис. 30.2. *Giardia intestinalis*. А и Б — вегетативная форма, вид «спереди» и «сбоку». В и Г — цисты (двухъядерная и четырехъядерная стадии). Слева в виде кружка изображен эритроцит, чтобы дать представление об относительных размерах клеток. [Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A., Review of Medical Microbiology, 12th ed. Lange Medical Publications, Los Altos, Calif., 1976.]

ходят с фекалиями в окружающую среду и загрязняют пищевые продукты и воду.

Цисты *Toxoplasma gondii* передаются различными путями. Они присутствуют в скелетных мышцах овец и свиней, поэтому источником инфекции может быть недожаренное или недоваренное мясо этих животных. Кроме того, цисты токсоплазмы обнаружены в альвеолах легких; следовательно, второй путь передачи инфекции — вдыхание зараженной пыли. Недавно было показано, что еще один резервуар этого микроорганизма — домашние кошки; они выделяют цисты с фекалиями. Попадание цист из этого источника с пищей или при вдыхании очень часто приводит к заражению.

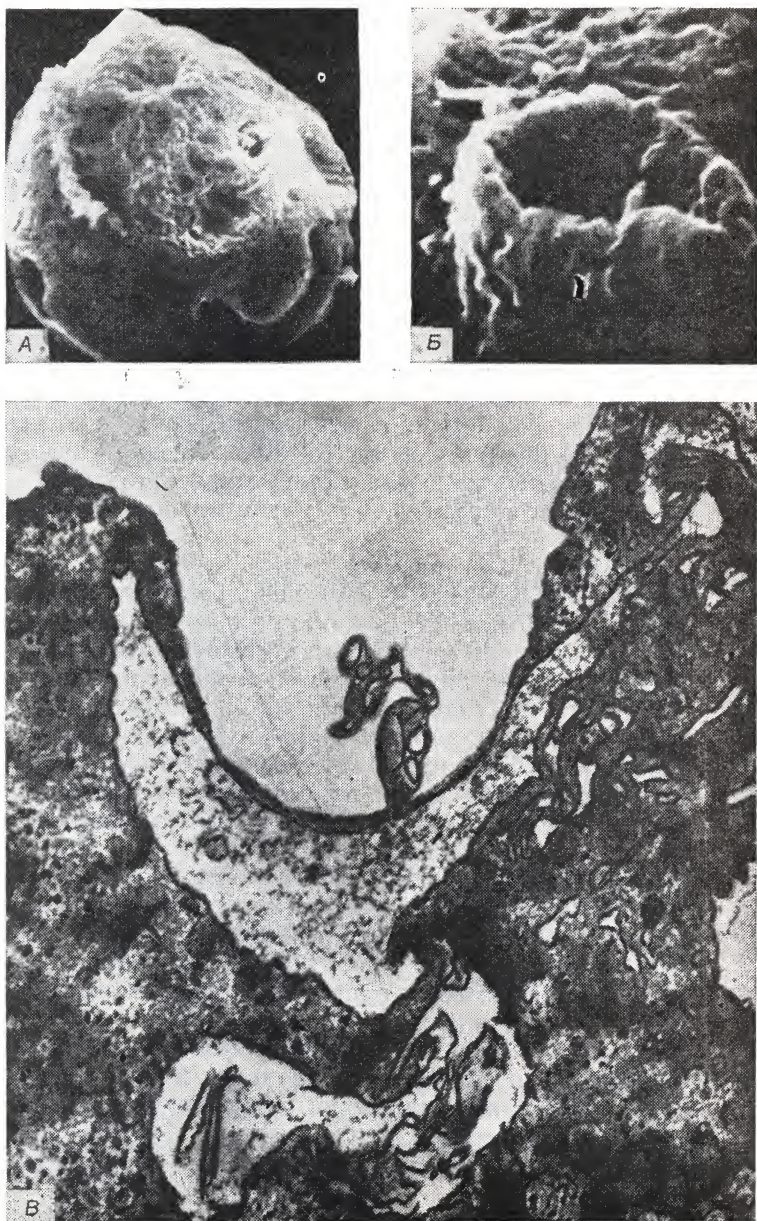
У простейших кишечных паразитов были открыты два новых механизма поражения организма хозяина. На вентральной поверхности *Giardia lamblia* имеется диск-присоска, с помощью которого микроорганизм прикрепляется к слизистой кишечника (рис. 30.2). При тяжелых инфекциях внутренняя поверхность верхней части тонкого кишечника бывает полностью покрыта паразитами, которые механически препятствуют всасыванию жиров. Именно нехватка жиров обуславливает некоторые патологические последствия заражения.

Еще один специфический механизм поражения встречается у *Entamoeba histolytica*. Как видно из названия, этот микроорганизм вызывает лизис клеток хозяина, особенно лейкоцитов. Для лизиса лейкоцита необходим непосредственный контакт между ним и амебой. Проведенные недавно электронно-микроскопические исследования показали, что эта амеба обладает разнообразными лизосомами, причем каждая из них снабжена червеобразным придатком, который, видимо, служит рецептором (рис. 30.3). Контакт между рецептором и клеткой хозяина может привести к выворачиванию лизосомы и разрушению лейкоцита лизосомными ферментами.

Рис. 30.3. Поверхностные лизосомы *Entamoeba histolytica*. А. Микрофотографии трофозонта *E. histolytica*, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. На переднем плане видно семь

лизосом, три из которых несут рецептор ($\times 2130$). Б. Поверхностная лизосома с торчащим рецептором показана крупным планом ($\times 6800$). В. Электронная микрофотография тонкого среза поверхно-

стной лизосомы ($\times 36\,600$). [Eaton R. D. P., Meerovitch E., Co-sterton J. W., The Functional Morphology of Pathogenicity in *Entamoeba Histolytica*, Ann. Trop. Med. and Parasitol., 64, 299 (1970).]



Жизненный цикл патогенных простейших трех групп — трипаносом, лейшманий и малярийных паразитов рода *Plasmodium* — проходит частично в организме хозяина-насекомого. Насекомые служат переносчиком патогенного микроорганизма от человека к человеку.

Существуют две группы трипаносом: африканские виды *T. gambiense* и *T. rhodesiense*, которые переносятся мухой цеце (*Glossina* spp.) и вызывают сонную болезнь, и американский вид *T. cruzi*, который передается клопами (сем. Triatomidae) и вызывает болезнь Чагаса. Типичная трипаносома изображена на рис. 4.10.

Лейшмании переносятся москитами (*Phlebotomus* spp.), а малярийный плазмодий — комарами рода *Anopheles*. Все насекомые-переносчики, кроме клопов, выделяют паразитов в кровь хозяина вместе со своей слюной. Переносчиком мембранных паразитов служат только самки *Anopheles*, так как самцы не сосут кровь. Клопы сем. Triatomidae оставляют трипаносом вместе с фекалиями на коже хозяина. Возбудители втираются в ранку от укуса насекомого или проникают в конъюнктиву глаза. Далее микроорганизмы развиваются внутри макрофагов, и в конце концов поселяются в мышечных волокнах.

Трипаносомы размножаются в крови, а американские формы, кроме того, — в ретикуло-эндотелиальной системе. Вред, наносимый ими хозяину, видимо, обусловлен токсинами или аллергенами, которые действуют главным образом на центральную нервную систему и сердечную мышцу.

Leishmania donovani (рис. 30.4) — возбудитель болезни, которая называется кала-азар; он размножается в ретикуло-эндотелиальных клетках селезенки, печени, костного мозга и в лимфатических узлах. Другие виды лейшмании чаще вызывают локальные повреждения кожи и слизистых. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов, непосредственно вызывающие поражение, не идентифицированы.

Малярийные паразиты, проникнув в организм человека, вначале развиваются в паренхимных клетках печени, а затем в эритроцитах (рис. 30.5). Патологическое действие проявляется главным образом на втором этапе. Из-за разрушения эритроцитов развивается анемия, но одной анемии при малярии для проявления симптомов заболевания недостаточно. Видимо, большее значение имеют агенты, которые выделяются при разрушении эритроцитов и поражают костный мозг, селезенку, почки и другие органы. Чем являются эти агенты — продуктами паразита или хозяина — неизвестно.

Заболевания, вызываемые паразитами, которые передаются насекомыми, встречаются только в тех районах земно-

Рис. 30.4. *Leishmania donovani*. А. Крупная ретикуло - эндотелиальная клетка селезенки с амастиготами. Б. Промастиготы из кишечника москита или в культуре. В виде кружков изображены эритроциты, чтобы

дать представление об относительных размерах клеток. [Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A., Review of Medical Microbiology, 12th ed., Lange Medical Publications, Los Altos, Calif., 1976.]

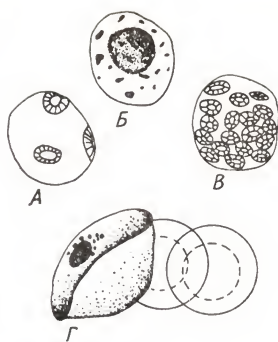
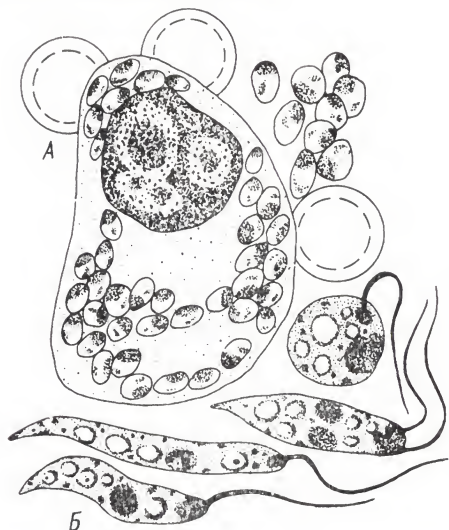


Рис. 30.5. *Plasmodium falciparum* в эритроцитах. А. Молодые трофозонты (тройная инфекция). Б. Зрелый трофозонт. В. Зрелый шизонт. Г. Зрелый гаметоцит. В виде кружков изображены эритроциты, чтобы дать представление об относительных размерах клеток. [Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A., Review of Medical Microbiology, 12th ed., Lange Medical Publications, Los Altos, Calif., 1976.]

го шара, где обычно обитают соответствующие насекомые-переносчики. Так, сонная болезнь встречается только в отдельных районах Африки, а болезнь Чагаса — в Центральной и Южной Америке. В то же время малярия была распространена ранее почти повсеместно, что отражает широкое распространение комаров *Anopheles*. Во многих районах с умеренным климатом были приняты меры по ограничению размножения малярийного комара, и к настоящему времени это заболевание встречается в основном в тропиках и субтропиках.

В пределах данного географического района распространность заболеваний, которые передаются насекомыми, зависит от распределения местообитаний насекомых (например, от расположения стоячих водоемов — мест выведения малярийного комара) и от сезонного распределения их численности.

ВЕНЕРИЧЕСКОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ

Trichomonas vaginalis поражает мочепускающий канал и предстательную железу у мужчин и влагалище у женщин. Микроорганизмы, изображенные на рис. 4.10, Б, не образуют цист и не могут долго существовать вне организма человека,

поэтому половое сношение — единственный способ их переноса. Паразиты обитают только в мочеполовых путях и поражают только эти органы. У женщин инфекция часто остается незамеченной.

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ СВОБОДНОЖИВУЩИМИ ПОЧВЕННЫМИ АМЕБАМИ

Некоторые свободноживущие почвенные амёбы вызывают у человека менингоэнцефалит, видимо, в результате случайного попадания на слизистую полости носа. Микроорганизмы, выделенные из зараженных тканей, до сих пор относили к роду *Naegleria*; было показано, что амёбы близкого рода, *Hartmanella*, способны вызывать похожий менингоэнцефалит у подопытных животных. Во всех описанных случаях заражение происходило при купании в реках и пресноводных озерах. Болезнь сопровождается обширным поражением мозга; механизм ее до сих пор неизвестен.

ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ

Вирусы вызывают патологические изменения в организме хозяина, разрушая клетки, в которых они размножаются, или индуцируя реакции повышенной чувствительности.

Респираторные вирусы выделяются из организма с выдыхаемыми каплями; заражение начинается на поверхности тканей дыхательных путей. *Энтеровирусы* выделяются с фекалиями, заражение происходит через загрязненные пищевые продукты или воду. Вирусы, *переносимые членистоногими* (арбовирусы), размножаются в организме позвоночных и членистоногих, причем последние служат переносчиками. Они выделяют вирусы вместе со слюной, когда сосут кровь. Другие вирусы переносятся при непосредственном контакте между людьми или через зараженные предметы домашнего обихода.

Основные вирусы — возбудители заболеваний человека, классифицированные по способу их переноса, перечислены в табл. 30.10; там же указаны органы-мишени (т. е. органы, которые при размножении вируса поражаются наиболее сильно). Вирусы животных иногда подразделяют именно исходя из этого критерия. Например, вирусы, которые поражают главным образом центральную нервную систему, называют *нейротропными*, а те, что вызывают сильные повреждения кожи, — *дерматотропными*. Следует подчеркнуть, что классификация вирусов исходя из способа их переноса или типа органов-мишеней не коррелирует с таксономической классификацией вирусов, в основу которой положены их физико-химические свойства (табл. 12.1).

Способность вирусов размножаться в определенных органах и повреждать их, не затрагивая другие органы, свиде-

ТАБЛИЦА 30.10

ВИРУСЫ — ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЧЕЛОВЕКА,
СГРУППИРОВАННЫЕ ПО СПОСОБАМ ИХ ПЕРЕНОСА

Основной способ переноса	Вирус	Основные органы-мишени
Респираторный	Вирус гриппа	Дыхательные пути
	Вирус парагриппа	То же
	Респираторный синцити- альный вирус	» »
	Вирус кори	Дыхательные пути, кожа
	Вирус свинки	Околоушные железы, яички, мозговые оболочки
	Аденовирусы	Дыхательные пути
	Риновирусы	То же
	Некоторые вирусы Кок- саки	Дыхательные пути и многие другие органы
	Коронавирусы	Дыхательные пути
Кишечный	Полиовирусы	Слизистая кишечника, лим- фатические узлы, цент- ральная нервная система
	Некоторые вирусы Кок- саки	Многие органы
	Вирусы ЕСНО	Желудочно-кишечный тракт; возможна диссе- минация
	Вирус гепатита	Печень (а также почки и селезенка)
Непосредственный контакт	Вирус простого герпеса	Слизистые полости рта
	Вирусы группы оспы	Кожа и многие другие ор- ганы
	Вирус краснухи	То же
Укус животного	Арбовирусы	Многие органы
	Вирус бешенства	Центральная нервная си- стема

тельствует о высокой *тканеспецифичности* вирусов. В ряде случаев эта специфичность обусловлена присутствием на поверхности клеток соответствующих *рецепторов* для вирусов; например, можно показать, что гомогенаты чувствительных органов связывают вирионы, а гомогенаты нечувствительных органов нет.

Кроме того, вирусы проявляют значительную *специфичность к хозяину*; они способны заражать одни виды животных, не заражая другие. Для некоторых случаев было показано, что и здесь определяющим фактором является наличие рецепторов для вируса. Например, клетки приматов имеют рецепторы для вирионов полиомиелита, а у клеток грызунов

такие рецепторы отсутствуют; полиовирусная же РНК заражает клетки обоих типов, правда с низкой эффективностью.

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХОЗЯИНА: ФАГОЦИТЫ

Фагоциты образуют первую линию обороны организма хозяина как против вирусов, так и против клеток патогенных микроорганизмов. Вирулентные вирусы преодолевают этот барьер, размножаясь внутри макрофагов; при этом высвобождается большое число вирусных частиц, которые заражают другие типы клеток.

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХОЗЯИНА: ИНТЕРФЕРОН

Практически во всех животных клетках, но в первую очередь в клетках костного мозга, селезенки и в макрофагах вирусная инфекция индуцирует синтез белка, препятствующего размножению вируса. Этот белок называется *интерфероном*; он препятствует размножению всех вирусов, а не только вирусов того типа, которые индуцировали его синтез. У разных видов животных образуются разные интерфероны, которые эффективнее всего защищают клетки животных именно данного вида.

Синтез интерферона в животных клетках можно индуцировать *двухцепочечной РНК*; никакие другие формы нуклеиновых кислот в этом отношении неактивны. Поскольку все РНК-содержащие вирусы образуют при репликации двухцепочечные комплексы, способность двухцепочечной РНК индуцировать синтез интерферона легко объяснима. ДНК-содержащие вирусы также могут вызывать в зараженных клетках образование некоторого количества двухцепочечной РНК, хотя, насколько известно, она не нужна для их репликации или созревания. Такая двухцепочечная РНК была действительно обнаружена в клетках, зараженных вирусом осповакцины (ДНК-содержащий вирус); она индуцирует синтез интерферона.

Сам интерферон не подавляет размножение вируса; он индуцирует образование другого белка, называемого *анти-вирусным*, который и является истинным ингибитором. Синтез антивирусного белка индуцируется не только в тех клетках, где синтезируется интерферон, но и в соседних клетках, куда он диффундирует. Таким образом, сфера действия интерферона как защитного механизма хозяина значительно расширяется.

422 Антивирусный белок подавляет размножение вируса, видимо, блокируя трансляцию вирусной информационной РНК

в вирусные белки; это объясняет его защитное действие по отношению и к РНК-, и к ДНК-содержащим вирусам.

ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХОЗЯИНА: ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ

Большинство вирусов — хорошие антигены, индуцирующие синтез нейтрализующих антител и стимулирующие механизмы клеточного иммунитета. В защите от некоторых вирусов, таких, как поксвирусы и вирусы, обладающие оболочкой, клеточный иммунитет играет, видимо, более важную роль, чем антитела. Он обеспечивает также элиминацию клеток хозяина, на поверхности которых появились новые антигены, связанные с присутствием в этих клетках латентных вирусов или геномов опухолевых вирусов.

Реакция клеточного иммунитета связана не только с повышением активности макрофагов, но и с усиленным образованием интерферона, так как активированные под действием антигенов лимфоциты выделяют интерферон вместе с другими факторами, описанными в гл. 29. Таким образом, чтобы вирус был высоковирулентным, он должен обладать следующими свойствами: во-первых, быть резистентным к действию соответствующих антител (т. е. связываться с клеткой хозяина и проникать в нее, даже если он покрыт антителами) или должен индуцировать синтез антител лишь незначительно; во-вторых, должен обладать способностью размножаться или по крайней мере не разрушаться внутри фагоцитов и, в-третьих, быть устойчивым к действию интерферона или слабо индуцировать его синтез.

МЕХАНИЗМ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТОК ХОЗЯИНА: ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ

Многие вирусы инициируют реакции гиперчувствительности замедленного типа, вызывая неспецифическое поражение ткани, как это описано в гл. 29. Некоторые вирусы обладают антигенами, дающими перекрестную реакцию с антигенами хозяина, т. е. антитела, индуцированные вирусом, могут взаимодействовать с клетками хозяина определенного типа и вызывать аутоиммунное заболевание. По всей вероятности, именно это имеет место при заражении вирусами, которые при своем высвобождении из клетки приобретают оболочку из модифицированной мембраны клетки-хозяина (гл. 12). Эти вирионы индуцируют антитела, активные не только по отношению к ним самим, но и к незараженным и зараженным клеткам. Другими словами, соединение вирусных антигенов с клеточной мембраной может сообщить обычным компонентам мембраны антигенные свойства.

МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ
ХОЗЯЙСКИХ КЛЕТОК:
ЦИТОПАТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ

Симптомы вирусного заболевания во многих случаях отражают патологические изменения, которые происходят в самих зараженных клетках. Эти изменения, часто приводящие к гибели клетки, бывают двух типов: морфологические, когда разрушаются мембраны и внутренние структуры клетки, и биохимические, когда нарушаются процессы синтеза и другие физиологические процессы.

Для проявления цитопатических эффектов в большинстве случаев, по-видимому, необходимо, чтобы вирус индуцировал синтез новых белков; эти белки, которые ведут себя, следовательно, как внутриклеточные недиффундирующие токсины, могут входить в состав зрелого вириона, а могут и не входить. Токсическое действие индуцированных вирусом белков можно выявить, выделив их из зараженных клеток и введя в высокой концентрации в культуру незараженных клеток. Например, показано, что два вирусных белка оболочки, которые можно выделить из клеток зараженных аденовирусом, воздействуют на незараженные клетки: один из них вызывает морфологические изменения, а другой подавляет синтез макромолекул.

Детальный механизм биохимических нарушений, обусловленных действием вирусных продуктов, в большинстве случаев неизвестен. Разрушение фагоцитов, видимо, зачастую обусловлено разрушением лизосом, литические ферменты которых выходят в цитоплазму клетки. В клетках других типов индуцированные вирусом белки, по всей видимости, блокируют пути метаболизма клетки-хозяина, что приводит к прекращению нормального синтеза макромолекул и использованию для синтеза вирусных компонентов метаболитических предшественников. При некоторых вирусных инфекциях в ядре или цитоплазме накапливаются огромные количества вирионов или вирусных субъединиц; это так называемые *тельца-включения*. Их может быть так много, что происходит механическое разрушение клетки.

ЛАТЕНТНЫЕ
ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Некоторые вирусы способны в течение длительного времени оставаться в тканях хозяина, не вызывая явного заболевания. Такие *латентные инфекции* могут в конце концов перейти в острую форму под действием внешних факторов, нарушающих равновесие между паразитом и хозяином.

В зависимости от конкретного вируса наблюдаются латентные инфекции двух типов. В одних случаях возникает состояние носительства на клеточном уровне: в каждый мо-

мент времени заражены и выделяют вирус лишь немногие клетки; антитела и другие защитные механизмы хозяина удерживают численность вирусной популяции на постоянном уровне, но не искореняют ее полностью. В других случаях репликация вируса происходит с умеренной скоростью, не наносит ущерб клеткам; вирусные геномы передаются дочерним клеткам *внутриклеточно* в момент деления клетки.

Наконец, какое-либо изменение в физиологическом состоянии организма-хозяина нарушает равновесие, и последующее ускорение размножения вируса и его созревания приводит к обострению заболевания. Эта последовательность событий объясняет, видимо, многократное появление у одного и того же человека «лихорадки» (вызываемой вирусом простого герпеса), что провоцируется такими факторами, как утомление, простуда или действие солнечных лучей.

Многие заболевания, механизм которых ранее был неизвестен (например, подострый склерозирующий панэнцефалит и куру), как теперь показано, возникают после продолжительной латентной вирусной инфекции (иногда длящейся несколько лет). Эти заболевания называются *медленными вирусными инфекциями* и обусловлены, видимо, медленным развитием реакций гуморальной и клеточной повышенной чувствительности на протяжении длительного периода латентной инфекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Baker J. R., 1969, Parasitic Protozoa, London, Hutchinson University Library.
Barua D., Burrows W., 1974, Cholera, Philadelphia, W. B. Saunders.
Cluff J. E., Johnson J. E., 1972, III. Clinical Concepts of Infectious Diseases, Baltimore, Williams & Wilkins.
Cohen J. O. (ed.) (1970), The Staphylococci, New York, Wiley.
Goldblatt L. A. (ed.) (1969), Aflatoxin: Scientific Background, Control and Implications, New York, Academic Press.
Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A., 1976, Review of Medical Microbiology, 12th ed., Los Altos, Calif., Lange Medical Publications.
Purchase I. F. H. (ed.) (1974), Mycotoxins, New York, Elsevier Scientific.
Storz J., 1971, Chlamydia and Chlamydia-induced Diseases, Springfield, Ill., Thomas.
Vilcek J., 1969, Interferon, New York, Springer.
Youmans G. P., Paterson P. Y., Sommers H. M., 1975, The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases, Philadelphia, W. B. Saunders.

Обзоры

- Barksdale L. (1970), *Corynebacterium diphtheriae* and Its Relatives, Bact. Rev., 34, 378.
Bray R. S. (1974), Leishmania, Ann. Rev. Microbiol., 28, 189.
Brenner Z. (1973), Biology of *Trypanosoma cruzi*, Ann. Rev. Microbiol., 27, 347.
Culbertson C. G. (1971), The Pathogenicity of Soil Amebas, Ann. Rev. Microbiol., 25, 231.

- De Clercq E., Merigan T. C.* (1970), Current Concepts of Interferon and Interferon Induction, *Ann. Rev. Med.*, **21**, 17.
- Fuccillo D. A., Kurent J. E., Sever J. L.* (1974), Slow Virus Diseases, *Ann. Rev. Microbiol.*, **28**, 231.
- Mirocha C. J., Christensen C. M.* (1974), Fungus Metabolites Toxic to Animals, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **12**, 303.
- Smith H.* (1972), Mechanisms of Virus Pathogenicity, *Bact. Rev.*, **36**, 291.
- Linsell C. A., Peers F. G.* (1972), The Aflotoxins and Human Liver Cancer, *Recent Results Cancer Research*, **39**, 125.

Оригинальные работы

- MacLean D. J., Sargent J. A., Tommerup I. C., Ingram D. S.* (1974), Hypersensitivity as the Primary Event in Resistance to Fungal Parasites, *Nature*, **249**, 186.
- Pappenheimer A. M., Jr., Gill D. M.* (1973), Diphtheria, *Science*, **182**, 353.

31 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ЧЕЛОВЕКОМ

Роль микроорганизмов в превращениях органических веществ была осознана только в середине XIX в., хотя человек с доисторических времен использовал процессы, протекающие с участием микробов, для приготовления пищи, напитков и тканей. Во многих случаях человек научился управлять этими процессами и значительно усовершенствовал их с помощью чисто эмпирических методов. Самые известные примеры процессов, протекающих с участием микробов, — производство пива и вина, засолка некоторых растительных продуктов, приготовление хлеба, уксуса, сыра и масла, вымачивание льна. Развитие микробиологии, которая выяснила механизмы этих традиционных процессов, привело не только к значительному усовершенствованию многих из них, но и к появлению новых отраслей промышленности, основанных на использовании самых разных микроорганизмов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ

Дрожжи издавна широко используются человеком. В природе существует множество родов и видов этих микроорганизмов, и многие из них применяются в промышленности, но особенно большое значение имеют различные штаммы *Saccharomyces cerevisiae*. С их помощью получают вино, пиво, заквашивают тесто.

Производство алкогольных напитков было широко развито уже на самых ранних этапах человеческой цивилизации; существует множество мифов о происхождении вина, которые приписывали его открытие божественному откровению. Следовательно, уже в глубокой древности возникновение винодельческого искусства было окутано тайной доисторических времен. Дрожжи для заквашивания теста впервые были использованы в Египте около 6000 лет назад, и с того времени этот способ получения дрожжевого теста медленно распространился по западному миру.

Способ перегонки спирта и, следовательно, его концентрирования был открыт в Китае или арабских странах. В Европе винокуренные заводы появились в середине VII в. Вначале получаемый спирт использовался человеком только для приготовления напитков, но затем в связи с промышленной революцией он стал применяться как растворитель и химическое сырье.

В основе получения вина лежит сбраживание растворимых сахаров (глюкозы и фруктозы) виноградного сока с образованием этилового спирта и CO_2 . После сбора виноград давят и получают сырой сок, или виноградное сусло (*муст*), очень кислую жидкость, содержащую от 10 до 25% сахара (по весу). Зачастую закваской служит смешанная дрожжевая флора винограда. При таком естественном брожении в популяции дрожжей происходят сложные последовательные изменения; на последней стадии преобладают так называемые истинные винные дрожжи, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. В Калифорнии, например, муст сначала обрабатывают двуокисью серы, которая практически полностью уничтожает естественную дрожжевую флору, а сусло затем заквашивают нужным штаммом винных дрожжей. Брожение идет бурно и обычно заканчивается через несколько дней. Часто приходится регулировать скорость брожения или охлаждать смесь, чтобы предупредить повышение температуры, которое может повлиять на качество продукта или убить дрожжи. Муст, приготовленный как из черного, так и из белого винограда (*Vitis vinifera*), не окрашен, из него получается белое вино. Краситель черного винограда содержится в кожуре, поэтому красное вино получают при брожении муста в присутствии кожуры. Спирт, образующийся при брожении, экстрагирует краситель, и вино окрашивается. По окончании брожения молодое вино необходимо осветлить, стабилизировать и дать ему созреть. Эти процессы занимают несколько месяцев, а при изготовлении высококачественных красных вин — даже несколько лет. В течение первого года во многих винах (в частности, красных) происходит второе спонтанное *яблочное-молочнокислородное брожение*, которое вызывается рядом молочнокислых бактерий (*Pediococcus*, *Leuconostoc* или *Lactobacillus*). В результате яблочная кислота, одна из двух основных органических кислот винограда, превращается в молочную кислоту и CO_2 ; таким образом, дикарбоновая кислота превращается в монокрбоную, и кислотность вина снижается. Хотя яблочное-молочнокислородное брожение происходит спонтанно, медленно и постепенно (часто даже без ведома винодела), оно абсолютно необходимо для производства высококачественных красных вин из винограда, выращенного в местностях с холодным климатом, так как полученные из него вина первоначально обладают слишком высокой кислотностью и потому плохими вкусовыми качествами.

Некоторые особые виды вин подвергают дополнительным превращениям под действием микробов. Игристые вина (типа шампанских) подвергают второму спиртовому брожению под давлением, добавляя в вино сахар, в бутылках или в больших сосудах. Образующаяся двуокись углерода газирует-

ТАБЛИЦА 31.1

ПЕРЕЧЕНЬ НЕКОТОРЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХСЯ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ВИН ИЛИ ВЫЗЫВАЮЩИХ ИХ ПОРЧУ

Микроорганизм	Роль микроорганизма в процессе изготовления вина или его порче	Вызываемые химические или физические изменения
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i>	1. Осуществляют первичное спиртовое брожение 2. Вызывают насыщение углекислым газом игристых вин за счет вторичного брожения 3. Вызывают помутнение десертных вин	Глюкоза и/или фруктоза → Этанол + CO ₂
<i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> и <i>Lactobacillus</i>	Осуществляют яблочно-молочнокислое брожение	1. Яблочная кислота → Молочная кислота + CO ₂ 2. Обогащение букета
Хересные дрожжи (<i>Saccharomyces beticus</i> , <i>cheresiensis</i> и <i>fermentii</i>)	В процессе роста образуют на поверхности вина пленку и придают ему хересный вкус	1. Окисление этанола до ацетальдегида 2. Образование компонентов букета
<i>Botrytis cinerea</i>	В некоторых районах (например, в провинции Сотерн во Франции) развиваются на поверхности винограда, используемого для приготовления десертных вин	1. Обезвоживание винограда 2. Окисление яблочной кислоты до CO ₂ и H ₂ O 3. Формирование букета и цвета
Уксуснокислые бактерии и дрожжи, образующие пленку	Вызывают порчу вина на воздухе	Окисление этанола до уксусной кислоты
Молочнокислые бактерии, особенно <i>Lactobacillus trichodes</i>	Вызывают порчу вина в анаэробных условиях	Появление «мышинного» привкуса

ет вино. Второе брожение осуществляется различными винными дрожжами, которые после брожения образуют комки и легко удаляются. Херес (тип вина, которое производится в Испании в районе Херес) крепят добавлением спирта до 15% и выдерживают на воздухе, в результате чего на поверхности интенсивно развиваются определенные дрожжи; это придает вину неповторимый хересный вкус.

Некоторые европейские десертные вина, в частности вина из южных районов Франции, претерпевают еще более сложные превращения под действием микробов. Перед сбором виноград спонтанно заражается грибом *Botrytis cinerea*. Это вызывает потерю воды, а потому увеличение содержания сахара и разрушение яблочной кислоты, что снижает кислотность винограда, улучшает его вкус и цвет. Очень сладкий муст, который получается из этого зараженного грибом вино-

града, сбраживается так называемыми *глюкофильными дрожжами*, т. е. дрожжами, которые быстро сбраживают глюкозу, оставляя нетронутой фруктозу (более сладкую из этих двух сахаров). В результате получается сладкое десертное вино.

Хотя из-за высокого содержания спирта и низкого значения рН ($\sim 3,0$) вина являются плохим субстратом для роста большинства микроорганизмов, они тем не менее могут портиться под действием микробов. Первым проблему «болезней» вин с научной точки зрения исследовал Пастер; сделанные им описания микроорганизмов, вызывающих порчу, и рекомендации по предупреждению их развития не утратили своего значения до сих пор. Быстрее всего вина портятся при воздействии воздуха. Дрожжи и уксуснокислые бактерии, образующие пленку, при своем росте используют спирт и превращают его в уксусную кислоту; таким образом вино скисает. Вино портится и возбудителями брожения в отсутствие воздуха, в частности палочковидными молочнокислыми бактериями, которые способны расти в анаэробных условиях, используя остаточный сахар и придавая вину «мышинный» привкус. Винные дрожжи могут расти в сладких винах даже после разлива вина в бутылки; хотя их рост и не влияет на букет, вино становится мутным и теряет привлекательность. Порчу вина можно предупредить пастеризацией, но иногда она снижает его качество. Особенно подвержены порче вина с низким содержанием спирта, содержащие сахар; в них обычно добавляют специальные химические вещества (например, двуокись серы) или стерилизуют путем фильтрации. Роль различных микроорганизмов в производстве и порче вин описана в табл. 31.1.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ПИВА

Пиво производят из зерна, которое в отличие от винограда и других фруктовых мустов, не содержит сбраживаемых сахаров. Крахмал зерна перед сбраживанием дрожжами необходимо осахарить (гидролизовать до сбраживаемых сахаров мальтозы и глюкозы). Для производства пива издавна использовали три основных вида зерновых: ячмень в Европе, рис на Востоке и кукуруза в Америке. В каждом случае для осахаривания крахмала использовался свой метод. При изготовлении пива из ячменя применяют ферменты, гидролизующие крахмал самого зерна (амилазы). Семена ячменя практически не содержат амилазу, но при прорастании образуются большие количества этого фермента. Ячмень увлажняют, дают ему прорасти, а затем сушат и хранят для последующего использования. Такой высушенный проросший ячмень называется *солодом*; в результате высушивания при повышенных температурах он приобретает темную окраску и становится более ароматным, чем необработанные зерна ячме-

ня. При соложении крахмал ячменя остается почти нетронутым, поэтому первый этап в изготовлении пива состоит в размалывании солода и его суспендировании в воде, чтобы произошел гидролиз крахмала. Иногда солод используется в качестве единственного источника крахмала; если же хотят получить светлое пиво, к смеси для осахаривания добавляют ячмень, не подвергавшийся соложению, или другое зерно. В США при производстве пива используется в большом количестве рис. Одновременно с гидролизом крахмала происходят другие ферментативные процессы, в том числе гидролиз белков. После того как осахаривание смеси достигает требуемого уровня, ее кипятят, чтобы остановить дальнейшие ферментативные превращения, и затем фильтруют. К фильтрату (*затору*) добавляют хмель (прицветники женских соцветий вьющегося растения *Humulus lupulus*), который содержит растворимые смолистые вещества, придающие пиву характерный горький вкус и предотвращающие рост бактерий в нем. Хмель при изготовлении пива стали использовать сравнительно недавно, в середине XVI в.; в некоторых странах до сих пор делают пиво без хмеля. После фильтрации затор, содержащий хмель (пивное сусло), готов к сбраживанию.

В отличие от сбраживания вина при сбраживании пива в него вносят большое количество дрожжей определенного штамма, полученных в результате предыдущего сбраживания. Брожение идет при пониженной температуре в течение 5—10 дней. Все дрожжи, используемые при изготовлении пива, относятся к виду *Saccharomyces cerevisiae*, но не все штаммы *S. cerevisiae* позволяют получить хорошее пиво. Со временем были отобраны особые штаммы, обладающие нужными свойствами; они называются *пивными* (*культурными*) *дрожжами*. До Пастера отбор и поддержание нужных штаммов дрожжей проводили эмпирически и это было своего рода искусством. Успех зависел главным образом от способности пивовара получить подходящий штамм и поддерживать его от партии к партии пива, не допуская сильного загрязнения нежелательными микроорганизмами. Хорошие пивные дрожжи выводили веками; в природе их найти невозможно. Подобно культурным высшим растениям, такие дрожжи — продукт человеческой деятельности, и, чтобы отметить этот факт, пивовары называют другие дрожжи (в том числе другие штаммы *S. cerevisiae*) «дикими».

Со времен Пастера выявление, проверка и поддержание нужных штаммов пивных дрожжей были поставлены на научную основу. Пионером в этой области является Хансен (Е. С. Hansen), который работал в пивоварне Карлсберга в Копенгагене. Штаммы пивных дрожжей делятся на две основные группы; их называют *верхними* и *нижними* дрожжами. Верхние дрожжи эффективно сбраживают пиво; лучше

всего они «работают» при сравнительно высокой температуре (20 °C) и используются при изготовлении крепких сортов пива с высоким содержанием алкоголя, например английского эля. Свое название эти дрожжи получили благодаря тому, что во время брожения они увлекаются в верхнюю часть бродильного чана из-за интенсивного выделения CO₂. Нижние дрожжи, наоборот, сбраживают пиво медленно, «работают» лучше при более низкой температуре (от 12 до 15 °C) и используются при изготовлении более легких сортов пива с низким содержанием алкоголя; в США обычно производится пиво именно этого типа. Названы нижние дрожжи так потому, что образование CO₂ идет медленнее и во время брожения они оседают на дно.

Болезни пива, как и болезни вина, были впервые исследованы с научной точки зрения Пастером. Чаще всего они возникают во время брожения, созревания и после разлива в бутылки. Один из возбудителей — «дикие» дрожжи *Saccharomyces pasteurianus*, которые придают пиву неприятную горечь. Они развиваются главным образом в том случае, если температура при созревании или хранении пива слишком высока. Скисание пива могут порой вызывать и уксуснокислые бактерии, особенно если пиво, разлитое в бочки, подвергается действию воздуха. Чтобы избежать порчи, нужно прежде всего использовать чистые штаммы дрожжей в начале брожения и пастеризовать конечный продукт. В настоящее время некоторые сорта пива перед разливом в бутылки стерилизуют с помощью фильтрации, что позволяет сохранить вкус пива, ухудшающийся при пастеризации.

На Западе наиболее распространенные напитки, при изготовлении которых используется брожение, — это виноградные вина и ячменное пиво. На Востоке же сырьем для большинства таких напитков (например, сакэ) является рис. Для гидролиза рисового крахмала перед сбраживанием используются амилазы плесневых грибов, в основном *Aspergillus oryzae*. Первая стадия изготовления сакэ — получение культуры плесени. Споры плесени, взятые от предыдущей партии, засевают на замоченный рис и выращивают грибок до тех пор, пока мицелий не проникнет во всю массу риса. Этот материал (так называемый *койи*) служит как источником амилазы, так и посевным материалом для добавления в большую партию замоченного риса. Происходит гидролиз крахмала, и, когда накапливается достаточное количество сахара, начинается спонтанное спиртовое брожение. В *койи* присутствуют как молочнокислые бактерии, так и дрожжи, поэтому кроме спирта и CO₂ образуется молочная кислота. Таким образом, производство спиртных напитков из зерна на Востоке отличается от процессов, применяемых на Западе, в двух отношениях: осахаривание осуществляется микроорганизмами и происходит одновременно с брожением.

В Америке и в некоторых районах Среднего Востока используется еще один, третий компонент, вызывающий осахаривание, — человеческая слюна, содержащая амилазы. Индейцы Центральной и Южной Америки готовят кукурузное пиво, пережевывая зерна и выплевывая смесь в сосуд, где она претерпевает спонтанное спиртовое брожение.

ХЛЕБОПЕЧЕНИЕ

Спиртовое брожение под действием дрожжей — основной этап при изготовлении хлеба; этот процесс называется заквашиванием теста. В муку, смешанную с водой, добавляют дрожжи и оставляют смесь в теплом месте на несколько часов. Сама мука почти не содержит свободного сахара, который мог бы служить субстратом при брожении, но в ней присутствует ряд ферментов, расщепляющих крахмал и образующих достаточное количество сахара, чтобы поддерживать брожение. В обычно используемых высокоочищенных сортах муки эти ферменты разрушены, и сахар приходится добавлять в тесто; он быстро сбраживается дрожжами, а образующаяся двуокись углерода задерживается в тесте и заставляет его подниматься. Образующийся спирт удаляется в процессе выпечки. Дрожжи вызывают и другие, менее заметные изменения физических и химических свойств теста, влияющих на структуру и вкусовые качества хлеба. Это стало ясно, когда в хлебопечении попытались применить изобретенный немецким химиком Либихом (J. von Liebig) особый порошок — смесь веществ, которые при смачивании выделяют двуокись углерода. Либих предполагал, что этот порошок заменит дрожжи, но этого не произошло, хотя он широко применяется при изготовлении кондитерских изделий.

Все дрожжи, которые используются в хлебопечении, относятся к виду *Saccharomyces cerevisiae* и исторически происходят от штаммов верхних дрожжей, используемых в пивоварении. До XIX в. дрожжи для хлебопечения получали прямо из ближайшей пивоварни. В связи с выпечкой хлеба в промышленных масштабах развилась целая отрасль по производству прессованных дрожжей. Крупный современный хлебозавод потребляет ежедневно десятки килограммов дрожжей, поскольку на каждые 12 кг муки потребляется примерно 2 кг дрожжей. Как правило, пекарские дрожжи в настоящее время специальным образом высушивают, чтобы сохранить жизнеспособность дрожжевых клеток; такая обработка облегчает перевозку и хранение дрожжей.

МИКРОБЫ КАК ИСТОЧНИК БЕЛКА

Благодаря своему быстрому росту, высокому содержанию белка и способности использовать дешевые органические субстраты микроорганизмы являются ценным потенциальным

источником питания животных. Потребности животноводства привели к развитию новой отрасли промышленности — производству дрожжей, которые добавляют в корм животным. Поскольку задача этого производства состоит в получении клеточной массы, микроорганизмы выращивают при интенсивной аэрации, чтобы получить максимальный урожай. Но даже в этом случае при использовании углеводов в качестве субстратов они частично сбраживаются в спирт, поэтому вместо дрожжей, вызывающих брожение, используют строго аэробные дрожжи рода *Candida*.

ВЫРАЩИВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ НА УГЛЕВОДОРОДАХ НЕФТИ

Стоимость сырья — фактор первостепенной важности при производстве микроорганизмов в качестве корма, и для выращивания кормовых дрожжей вначале использовали дешевые источники углеводов (например, сыворотку, мелассу, другие отходы производства). Однако в аэробных условиях субстратом могут служить любые соединения, поддерживающие дыхательный метаболизм, в частности углеводороды нефти. Нефть пока гораздо дешевле, чем другие возможные субстраты, а поскольку углеводороды — самые восстановленные из органических соединений, рост на них идет весьма эффективно.

Промышленная компания «Бритиш петролеум» построила во Франции предприятие для выращивания *Candida lipolytica* в водной эмульсии неочищенной нефти. Эти дрожжи могут окислять алифатические неразветвленные углеводороды с длиной цепи от C_{12} до C_{18} — соединения, составляющие часть сложной смеси алканов, которую представляет собой неочищенная нефть. При таком избирательном удалении определенных углеводородов благодаря росту *Candida lipolytica* нефть освобождается от смолистых веществ и ее гораздо легче очистить. Экономически этот процесс выгоден в двух отношениях: упрощается очистка нефти и синтезируется белок.

В настоящее время интенсивно разрабатываются и другие методы получения бактериального белка на основе использования дешевых субстратов. Один из таких потенциальных субстратов — газ метан, главный продукт нефтехимического производства. Однако, чтобы наладить эффективный самокупаемый процесс, необходимо разрешить еще много проблем. Важнейшие из них — относительно медленный рост бактерий, окисляющих метан, и их склонность к выделению большого количества слизи.

ПОЛУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ

434 Ценность микроорганизмов при использовании их в качестве корма или добавки к корму для скота состоит в высоком со-

держании в биомассе белка. В связи с этим микроорганизмы являются наилучшим орудием для быстрого и эффективного превращения доступных органических соединений в нужный белок. Это становится особенно очевидно, если сравнить эффективность образования белка сельскохозяйственными животными и дрожжами. Так, в организме быка весом 500 кг за 24 ч образуется примерно 0,4 кг белка. 500 кг дрожжей синтезируют за то же время в благоприятных условиях более 5000 кг белка.

Многие растительные корма содержат достаточно белка, чтобы удовлетворить пищевые потребности млекопитающих в количественном отношении, но они не могут служить единственным источником белка, так как обеднены некоторыми необходимыми аминокислотами. Белки пшеницы бедны лизином, белки риса — лизином и треонином, кукурузы — триптофаном и лизином, белки бобов и гороха — метионином. Добавление недостающей аминокислоты (или аминокислот) в рацион, содержащий единственный источник растительного белка, делает этот рацион полноценным. Целесообразность добавления отдельных аминокислот в пищу была четко обоснована в многочисленных экспериментах как на животных, так и на человеке. Нехватка определенных аминокислот, в первую очередь лизина, треонина и метионина, является более важной проблемой, чем нехватка белка. Поэтому возможность использования микроорганизмов для получения определенных аминокислот интенсивно исследуется.

Метаболизм микроорганизмов находится под строгим контролем механизмов регуляции (гл. 9), поэтому в норме синтезируется ровно столько аминокислот, сколько необходимо для роста микробов. Однако вследствие нарушения механизмов регуляции определенных путей биосинтеза у некоторых встречающихся в природе и мутантных штаммов микроорганизмов синтезируется значительно больше определенных аминокислот. В настоящее время разработаны соответствующие методы получения ряда важных аминокислот, и эти методы постоянно совершенствуются.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Если вино и пиво подвергаются воздействию воздуха, они часто портятся — скисают. Скисание обусловлено окислением спирта до уксусной кислоты, которое осуществляют строго аэробные уксуснокислые бактерии. Спонтанное скисание вина лежит в основе традиционного метода получения уксуса. (На французском языке слово «уксус», *vinigre*, означает буквально «кислое вино».)

Производство уксуса все еще остается в основном эмпирическим процессом. Усовершенствования, введенные на протя-

жении прошлого столетия, касались главным образом механических, а не микробиологических аспектов производства. В традиционном *орлеанском методе*, который до сих пор используют во Франции, деревянные чаны наполняют вином, на поверхности которого развиваются уксуснокислые бактерии, образующие студенистую пленку. Превращение этанола в уксусную кислоту занимает несколько недель — скорость процесса лимитируется диффузией воздуха в жидкость. Получается продукт очень высокого качества, чем и объясняется то, что этот неэффективный метод применяется до сих пор.

Когда вкус продукта не имеет первостепенного значения, уксус делают более простыми методами и из более дешевого сырья (например, из разведенного перегнанного спирта и сидра). Окисление ускоряется благодаря улучшению аэрации и контролю температуры, но с микробиологической точки зрения процесс остается неконтролируемым. Самый старый из этих методов был разработан в XIX в. Бродильный чан заполняют деревянными стружками, не утрамбовывая их, и впрыскивают тонкими струйками спиртовой раствор, а навстречу ему вдувают воздух. Уксуснокислые бактерии развиваются на стружках в виде тонкой пленки; тем самым максимально увеличивается площадь, и аэрируемая, и богатая питательной средой. После развития на поверхности стружек популяции бактерий следующие партии уксуса производятся довольно быстро; раствор, содержащий вначале 10% спирта, можно превратить в уксусную кислоту за 4—5 дней. Этот метод до сих пор применяется довольно широко, но в настоящее время все чаще используются глубокие бродильные чаны с интенсивным перемешиванием, подобные тем, которые применяются при получении антибиотиков.

Окисление этанола до уксусной кислоты — пример неполного окисления, которое осуществляется уксуснокислыми бактериями. Промышленное значение имеют и некоторые другие неполные окислительные превращения под действием этих бактерий. Так, используя уксуснокислые бактерии, из глюкозы получают глюконовую кислоту, которая применяется в фармацевтической промышленности. Уксуснокислые бактерии превращают ряд многоатомных спиртов в сахара. Одна из таких реакций используется в промышленности для получения сорбозы из сорбитола. Сорбоза служит суспендирующим агентом при приготовлении многих лекарственных препаратов и является промежуточным продуктом синтеза L-аскорбиновой кислоты (витамина C).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

436 Молочнокислые бактерии образуют большое количество молочной кислоты из сахара. Это приводит к снижению pH сре-

ды, в которой они росли, и предотвращает развитие большинства других микроорганизмов. Поэтому размножение молочнокислых бактерий способствует сохранению пищевых продуктов; кроме того, они образуют вещества, влияющие на вкусовые качества пищи.

МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

При изготовлении таких молочных продуктов, как масло, сыр и йогурт, используются различные микроорганизмы, но наиболее широко — молочнокислые бактерии. Осознание роли, которую играют микроорганизмы в получении этих продуктов, привело к развитию особой ветви микробиологии — микробиологии молока и молочных продуктов.

Многие молочнокислые бактерии изначально присутствуют в молоке и вызывают его спонтанное скисание. Заквашивание молока представляет собой своеобразный способ консервации этого весьма скоропортящегося в обычных условиях продукта, и изготовление сыра и других продуктов путем створаживания молока несомненно возникло как способ его консервации.

Производство сыров состоит из двух основных этапов: *створаживания* белков молока, образующих твердый осадок, из которого удаляется жидкость, и *созревания* творога под действием различных бактерий и грибов (хотя некоторые сыры почти не проходят стадию созревания).

Процесс створаживания может быть чисто микробиологическим, так как кислоты, образуемой молочнокислыми бактериями, достаточно для свертывания молочных белков. Однако часто для этой цели используется фермент, названный *реннином* (его выделяют из желудка телят).

Последующее созревание творога — очень сложный процесс, особенности его зависят от того, какой сорт сыра хотят получить. Процессы созревания в химическом отношении весьма многообразны. В молодом сыре весь азот входит в состав нерастворимого белка, но по мере созревания сыра белок расщепляется на растворимые пептиды и в конце концов — на свободные аминокислоты. Далее аминокислоты могут расщепляться с образованием аммиака, жирных кислот и аминов. В некоторых сырах расщепление белка ограничено. Например, в чеддере и швейцарском сыре в растворимые продукты превращается всего 25—35% белка, в мягких сырах, например в камембере и лимбургском сыре¹, — практически весь белок. Помимо изменений в белковых компонентах, при созревании происходит гидролиз значительной части жиров, содержащихся в молодом сыре. Определенный вклад в процесс созревания вносят ферменты, присутствующие в препа-

437 ¹ В СССР производится латвийский сыр, сходный с лимбургским. — Прим. перев.

рате реннина, но основную роль играют ферменты бактериального происхождения, содержащиеся в сыре. Твердые сыры созревают главным образом под действием молочнокислых бактерий, которые растут в сырой массе, гибнут, подвергаются автолизу и высвобождают гидролитические ферменты. Мягкие сыры созревают под действием ферментов дрожжей и других грибов, растущих на поверхности.

Некоторые микроорганизмы играют весьма специфическую роль в созревании определенных сортов сыра. Синяя или зеленоватая окраска и неповторимый вкус рокфора обусловлены ростом в толще сыра синей плесени *Penicillium roqueforti*¹. Характерные «ноздри» в швейцарском сыре образуются за счет выделения двуокиси углерода — продукта

ТАБЛИЦА 31.2

МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Продукт	Процесс	Основные микроорганизмы
Сливочное масло	Молочнокислое брожение	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Йогурт	То же	<i>L. bulgaricus</i> + <i>Streptococcus thermophilus</i>
Кефир	Спиртовое и молочнокислое брожение	<i>Streptococcus lactis</i> + <i>L. bulgaricus</i> + Сбраживающие лактозу дрожжи
Сыры (в целом)	Первичное молочнокислое брожение при температуре 35 °С при температуре 42 °С	<i>S. lactis</i> или <i>S. cremoris</i> Различные термофильные молочнокислые бактерии, в основном <i>Lactobacillus</i>
Твердые сыры (например, чеддер или швейцарский)	Протеолиз и липолиз	Различные молочнокислые бактерии в сыре
Мягкие сыры (например, камамбер, бри и лимбургский)	То же	Вначале на поверхности сыра растут грибы (<i>Geotrichum candidum</i> и <i>Penicillium</i> spp.), затем иногда развиваются <i>Bacterium linens</i> и <i>B. erythrogenes</i>
Швейцарский сыр	Пропионовокислое брожение	<i>Propionibacterium</i> spp.
Рокфор	Липолиз и образование синего пигмента	<i>Penicillium roqueforti</i>

¹ Иногда при изготовлении сыров, созревающих под действием плесени, используют бесцветный мутант *Penicillium roqueforti*, чтобы учесть запросы тех потребителей, кому нравится вкус, но неприятна окраска сыра.

пропионовокислого брожения молочной кислоты под действием бактерий рода *Propionibacterium*.

Получение сливочного масла также является отчасти микробиологическим процессом, поскольку для отделения жира в процессе сбивания необходимо предварительное скисание сливок, которое вызывают стрептококки молока. Эти микроорганизмы образуют небольшое количество ацетонина, спонтанно окисляемого до диацетила, обуславливающего вкус и запах масла. Стрептококки сильно различаются по способности образовывать ацетонин, поэтому обычно пастеризованные сливки заражают чистыми культурами отобранных штаммов.

Во многих странах молоко подвергают спонтанному сбраживанию смешанного типа под действием молочнокислых бактерий и дрожжей; при этом получаются кислые, иногда содержащие небольшое количество алкоголя напитки (например, кумыс).

Роль микроорганизмов в производстве молочных продуктов суммирована в табл. 31.2.

МОЛОЧНОКИСЛОЕ БРОЖЕНИЕ ПРОДУКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

На растительных продуктах обычно присутствуют определенные молочнокислые бактерии. Эти микроорганизмы ответственны за процессы, происходящие при приготовлении соленых огурцов, кислой капусты и маслин. При молочнокислом брожении такого рода субстратом брожения служат присутствующие в растительных продуктах сахара. Образующаяся молочная кислота придает продукту специфический вкус и предотвращает дальнейшее развитие в нем микроорганизмов.

Молочнокислое брожение как средство сохранения продуктов от порчи используется также при силосовании корма для скота. После того, как растительный материал претерпел брожение, его можно хранить в течение длительного времени, не опасаясь разложения.

ПОЛУЧЕНИЕ ДЕКСТРАНА

Некоторые молочнокислые бактерии, относящиеся к роду *Leuconostos*, при выращивании на сахарозе выделяют в среду большое количество полисахарида, который называется декстраном. Декстран — полиглюкоза с высоким, хотя и варьирующим для разных штаммов молекулярным весом (от 15 000 до 20 000 000). Эти молочнокислые бактерии привлекли к себе внимание микробиологов из-за тех неприятностей, которые причинили пищевой промышленности: они размножались в установках по очистке сахара, и огромное количество образующегося клейкого полисахарида очень мешало производству.

В настоящее время декстран производят промышленным способом. Это производство стимулировалось тем, что, как оказалось, поперечносшитые нерастворимые в воде производные декстрана можно использовать в качестве молекулярных сит. Колонки с такими модифицированными декстранами (коммерческое название *сефадекс*) задерживают небольшие молекулы, что позволяет разделять растворенные вещества, различающиеся по молекулярному весу. Колонки с сефадексом после соответствующей калибровки можно использовать для определения молекулярных весов в диапазоне от 700 до 800 000.

Другой класс полисахаридов, получаемых микробиологической промышленностью, — это сложные в химическом отношении внеклеточные полисахариды, синтезируемые аэробными псевдомонадами группы *Xanthomonas*. Благодаря своим физическим свойствам эти вещества способны образовывать тиксотропные гели, устойчивые к нагреванию. Эти свойства позволяют широко использовать данные полисахариды в промышленности, в первую очередь в качестве смазочных материалов при бурении нефтяных скважин и в качестве загустителя для водорастворимых красок.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАСЛЯНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Для высвобождения определенных компонентов растительных тканей издавна используется вымачивание — регулируемое разложение растительных материалов под действием микроорганизмов. Древнейший из таких процессов, который использовался человеком на протяжении нескольких тысячелетий, — вымачивание льна и пеньки для получения волокон, применяемых затем для изготовления холста. В стебле растения эти волокна, состоящие из целлюлозы, соединены друг с другом связывающим веществом пектином; разделить их физическими методами очень трудно. Вымачивание разрушает пектин и разъединяет волокна. Стебли растений замачивают в воде; по мере набухания развиваются аэробные микроорганизмы, которые используют весь растворенный кислород и создают подходящие условия для последующего развития анаэробных маслянокислых бактерий. Эти микроорганизмы эффективно разрушают пектин и разъединяют волокна. Если вымачивание затягивается, в среде могут развиваться бактерии, сбраживающие целлюлозу, которые разрушают и волокна.

Процесс, аналогичный вымачиванию, применяется для получения картофельного крахмала. Его цель — освободить клетки картофельного клубня, содержащие крахмал, от пектина, который их окружает.

БРОЖЕНИЕ С ОБРАЗОВАНИЕМ АЦЕТОНА И БУТАНОЛА (АЦЕТОНОБУТИЛОВОЕ БРОЖЕНИЕ)

В течение последних 50 лет для производства промышленных растворителей ацетона и бутанола широко использовались некоторые виды *Clostridium*. Многие клостридии сбраживают сахара с образованием двуокиси углерода, водорода и масляной кислоты. Некоторые из них превращают далее масляную кислоту в бутанол, а уксусную кислоту — в этанол и ацетон. Промышленное освоение так называемого *ацетонобутилового брожения*, которое осуществляется *Clostridium acetobutylicum*, началось в Англии накануне первой мировой войны. Во время войны это производство стало быстро развиваться, поскольку ацетон использовался как растворитель при производстве взрывчатых веществ. С окончанием войны спрос на ацетон упал, но само производство не утратило своего значения, поскольку второй основной продукт брожения, бутанол, стал применяться как растворитель, обеспечивающий быстрое высыхание нитроцеллюлозных красок, которые применяются в автомобильной промышленности. Рентабельность производства была связана еще и с тем, что в качестве побочного продукта брожения можно было получать витамин рибофлавин.

В настоящее время эта отрасль микробиологической промышленности почти полностью исчезла в результате развития более эффективных методов синтеза данных продуктов. Ацетон и бутанол получают в больших количествах из нефти, а рибофлавин — в основном микробиологическими методами, основанными на использовании дрожжей.

Ацетонобутиловое брожение внесло важный вклад в развитие технологии промышленной микробиологии. Это был первый крупномасштабный процесс, для успешного протекания которого решающее значение имело исключение посторонних микроорганизмов. Среда, используемая для выращивания *Clostridium acetobutylicum*, благоприятна и для развития молочнокислых бактерий, которые быстро подавляют дальнейший рост клостридиев. Еще более серьезная проблема — заражение среды бактериальными вирусами, к которым клостридии весьма чувствительны. Таким образом, ацетонобутиловое брожение может осуществляться только при тщательном микробиологическом контроле. Создание этой отрасли промышленности привело к первому успешному крупномасштабному внедрению метода чистых культур, который позднее был усовершенствован в связи с промышленным производством антибиотиков.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

За время, прошедшее после окончания второй мировой войны, возникла и очень быстро развилась еще одна отрасль промышленности, основанная на использовании микроорганизмов, — получение лекарственных препаратов, в первую очередь антибиотиков и гормонов. Развитие этой отрасли имело очень важные и далеко идущие социальные последствия. С помощью лекарственных препаратов удается излечивать почти все инфекционные бактериальные заболевания, которые до начала эры антибиотиков были основной причиной смертности. В США бактериальные инфекции в настоящее время — более редкая причина смерти, чем самоубийства или дорожные происшествия.

РАЗВИТИЕ ХИМИОТЕРАПИИ

Роль приобретенного иммунитета как средства защиты организма от определенных заболеваний, вызванных бактериями, была выявлена вскоре после открытия роли микроорганизмов в этиологии инфекционных болезней (см. гл. 1). В течение нескольких последующих десятилетий лечение таких болезней основывалось исключительно на использовании антисывороток и вакцин и носило главным образом профилактический характер; обычно после развития заболевания для его лечения удавалось сделать очень немного.

Немецкий химик Пауль Эрлих разработал другой подход к лечению инфекционных заболеваний; он попытался чисто эмпирически подобрать синтетические химические соединения, обладающие *избирательной токсичностью* для патогенных микроорганизмов. Этот подход к лечению инфекционных заболеваний он назвал *химиотерапией*. Усилия Эрлиха увенчались некоторым успехом: в 1909 г. он нашел синтетические органические соединения, содержащие мышьяк, которые были эффективны при лечении сифилиса и других инфекций спирохетами, но давали опасные побочные эффекты.

Следующий значительный успех в химиотерапии был достигнут также эмпирическим путем. Исследуя антибактериальную химиотерапевтическую активность анилиновых красителей, обнаружили одно эффективное соединение этого класса, *пронтозил*. Однако *in vitro* пронтозил не обладал никаким антибактериальным действием, поскольку, как выяснилось позднее, его антибактериальная активность при введении зараженным животным обусловлена образованием в организме бесцветного продукта расщепления пронтозила *сульфаниламида*. Сульфаниламид обладает антибактериальной активностью как *in vitro*, так и *in vivo*. Вудс (D. D. Woods)

442 обнаружил, что подавление роста бактерий сульфанилами-

дом можно снять одним из его структурных аналогов, *p*-аминобензойной кислотой (рис. 31.1). Отсюда Вудс сделал ряд блестящих умозаключений: *p*-аминобензойная кислота является нормальным компонентом бактериальной клетки; она обладает коферментативной функцией; эта функция блокируется сульфаниламидом благодаря сходству его в струк-

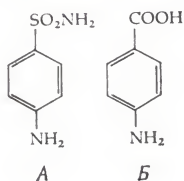


Рис. 31.1. Структурные формулы сульфаниамида (А) и *p*-аминобензойной кислоты (В).

турном отношении с *p*-аминобензойной кислотой. В действительности *p*-аминобензойная кислота оказалась не коферментом, а биосинтетическим предшественником кофермента фолиевой кислоты; сульфаниламид блокирует его превращение в этот конечный продукт. Избирательная токсичность сульфаниламида обусловлена тем, что большинство бактерий синтезируют фолиевую кислоту *de novo*, в то время как млекопитающие получают ее с пищей.

Работа Вудса заложила основу для нового подхода к химиотерапии — синтеза аналогов известных необходимых метаболитов. В последующие годы были синтезированы и исследованы тысячи структурных аналогов аминокислот, пуринов, пиримидинов и витаминов, но полезных в химиотерапевтическом отношении веществ оказалось среди них совсем немного.

Прогресс, достигнутый современной химиотерапией, — результат счастливой случайности: оказалось, что многие микроорганизмы синтезируют и выделяют вещества, избирательно токсичные для других микроорганизмов. Эти соединения, названные *антибиотиками*, произвели настоящую революцию в медицине.

Первый эффективный антибиотик был открыт А. Флемингом (A. Fleming) в 1929 г. Как и многие другие до него, Флеминг заметил, что на чашке с культурой бактерий, загрязненной плесенью, рост бактерий вблизи колоний плесени подавляется. Он сделал вывод, что плесень выделяет в среду какое-то вещество, препятствующее росту бактерий. Поняв всю важность этого факта, Флеминг выделил плесень, которая оказалась одним из видов *Penicillium*, и установил, что фильтраты культуры содержат антибактериальное вещество, названное им *пенициллином*.

Пенициллин оказался химически нестабильным, и Флеминг не смог очистить его. Работая с неочищенными препаратами, он показал, что пенициллин чрезвычайно эффективно подавляет рост многих бактерий, и даже с успехом исполь-

зовал его для наружного применения при лечении глазных болезней человека. Тем временем была открыта химиотерапевтическая активность сульфаниламидов, и Флеминг, разочарованный неудачами при попытке очистить пенициллин, прекратил дальнейшую работу над этой проблемой.

Спустя десять лет группа английских ученых во главе с Флори (H. W. Florey) и Чейном (E. Chain) возобновила исследования. Клинические испытания частично очищенного материала были поразительно успешными. Но в это время Англия воевала, и центр исследований переместился в США, где начались интенсивные поиски способов получения пенициллина. Через 3 года пенициллин производился в промышленных масштабах. Это поразительное достижение, учитывая множество трудностей, которые пришлось преодолеть¹.

Пенициллин до сих пор остается одним из наиболее эффективных химиотерапевтических препаратов для лечения многих бактериальных инфекций, в первую очередь инфекций, вызываемых грамположительными бактериями. Необычайный успех при таком лечении побудил к интенсивным поискам новых антибиотиков.

Второй клинически важный антибиотик, *стрептомицин*, эффективен против грамотрицательных бактерий и возбудителя туберкулеза; он был открыт Шатцом (A. Schatz) и Ваксманом (S. Waksman). Стрептомицин оказался первым антибиотиком, обладающим широким спектром действия, эффективным против многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. Впоследствии были обнаружены другие антибиотики с еще более широким спектром действия (например, тетрациклины). Для лечения грибковых заболеваний антибиотики оказались менее пригодными: антигрибковые антибиотики, например нистатин и амфотерицин В, гораздо менее эффективны в терапевтическом отношении, чем другие антибактериальные препараты. Частично это обусловлено тем, что их токсическое действие гораздо менее избирательно. Хорошие противовирусные антибиотики еще только предстоит найти.

С 1945 г. выделены и охарактеризованы тысячи различных антибиотиков, синтезируемых грибами, актиномицетами или одноклеточными бактериями. Большинство из них очень ценны в терапевтическом отношении. В настоящее время в больших количествах производится около 50 антибиотиков; они используются как в медицине, так и в ветеринарии. Их номенклатура довольно сложна; один и тот же антибиотик часто имеет несколько названий. Для такого многообразия имеются две причины. Во-первых, многие антибиотики сход-

¹ В СССР в 1942 г. З. В. Ермольева и сотр. получили высокопродуктивный штамм *Penicillium chrysogenum*, на основе которого было налажено промышленное производство пенициллина. — Прим. перев.

ТАБЛИЦА 31.3

СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ АНТИБИОТИКОВ

Класс химических соединений	Родовое название	Биологический источник	Объект химиотерапевтического действия	Механизм действия
β-Лактамы	Пенициллины	<i>Penicillium</i> spp.	Грамположительные бактерии	Подавляют синтез бактериальной клеточной стенки (пептидогликана)
	Цефалоспорины	<i>Cephalosporium</i> spp.	Грамположительные и грамотрицательные бактерии	
Макролиды	Эритромицин	<i>Streptomyces erythraeus</i>	Грамположительные бактерии	Подавляют функцию 50S-субъединицы рибосомы
Аминогликозиды	Стрептомицин	<i>S. griseus</i>	Грамположительные и грамотрицательные бактерии	Подавляют функцию 30S-субъединицы рибосомы
	Неомицин	<i>S. fradiae</i>		
Тетрациклины	Тетрациклин ¹	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Грамположительные и грамотрицательные бактерии; риккетсии, бедсонии	Ингибирует связывание аминоксил-тРНК с рибосомой
Полипептиды	Полимиксин G	<i>Bacillus polymyxa</i>	Грамотрицательные бактерии	Разрушает цитоплазматическую мембрану
	Бацитрацин	<i>B. subtilis</i>	Грамположительные бактерии	Подавляет синтез компонента бактериальной клеточной стенки (пептидогликана)
Полиеновые антибиотики	Амфотерицин В	<i>S. nodosus</i>	Грибы »	Действуют на мембраны, содержащие стеролы
	Нистатин	<i>S. nouresii</i>		
—	Хлорамфеникол ²	<i>S. venezuelae</i>	Грамположительные и грамотрицательные бактерии; риккетсии	Подавляет работу рибосомы на уровне трансляции

¹ Сначала микробиологическим методом получают хлортетрациклин, а затем отщепляют от него хлористый водород.

² В настоящее время получают путем химического синтеза.

ны по своей структуре и образуют отдельную группу. Необходимо дать название как всей группе, так и каждому ее представителю. Во-вторых, фирма, производящая данный антибиотик, присваивает ему *коммерческое* название, которое юридически может использовать только эта фирма. Кроме того, для защиты данной торговой марки закон требует, чтобы этому антибиотику было дано еще одно название, предназначенное для широкого использования, — *родовое название*. Наличие многочисленных названий у одного и того же лекарства можно проиллюстрировать на примере антианти-

Рис. 31.2. Структурные формулы некоторых антибиотиков. Рисунок иллюстрирует разнообразие классов к кото-

рым они относятся. Полимиксин В — циклический полипептид, в который входят аминокислотные остатки: лейцин

(Лей), фенилаланин (Фен), треонин (Тре) и α , γ -диаминамасляная кислота (ДАМ).

ка, которому в США присвоено родовое название *рифампин*. Родовое название того же соединения в Европе — рифампицин, групповое название — *рифамицин*, коммерческое — рифактин, рифадин и др.

Родовые названия, биологические источники и механизмы действия некоторых антибиотиков приведены в табл. 31.3.

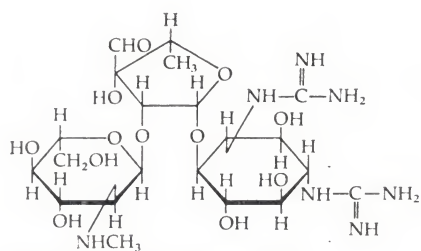
Химическая структура антибиотиков весьма разнообразна. В качестве примера на рис. 31.2 приведены структурные формулы представителей некоторых классов антибиотиков.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ

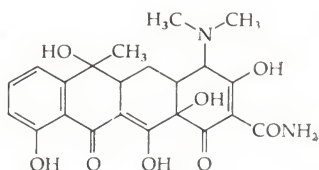
Поиски новых антибиотиков остаются чисто эмпирическим процессом, а их физиологическое значение для продуцирующих их микроорганизмов неясно. Однако причины избирательной токсичности антибиотиков в настоящее время в большинстве случаев известны. В целом это связано с фундаментальными биохимическими различиями между клетками прокариот и эукариот, а токсическое действие антибиотиков есть следствие их способности подавлять одну необходимую биохимическую реакцию, специфичную для клетки того или иного типа (см. гл. 3).

ПРОИЗВОДСТВО АНТИБИОТИКОВ

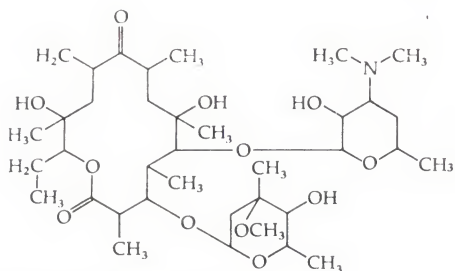
Антибиотики были первыми микробными метаболитами — продуктами промышленного производства, которые не являются *основными* конечными продуктами метаболизма. Их выход, рассчитанный исходя из количества превращенного основного источника углерода в антибиотик, низок, и на процесс сильно влияют состав среды и другие условия культивирования. Все это заставило предпринять интенсивные исследования, направленные на повышение продуктивности процесса. Особенно успешным оказался в этом плане генетический отбор. Штамм *Penicillium chrysogenum* дикого типа, первоначально используемый для производства пенициллина, давал примерно 0,1 г пенициллина на 1 л культуры. Был отобран мутант, который при тех же условиях давал 8 г на 1 л, т. е. выход увеличился в 80 раз. Отбор нужных штаммов после химического мутагенеза позволил получить новые формы с еще более высоким выходом. С помощью такого *последовательного генетического отбора* часто удавалось получить тысячекратное увеличение продуктивности. Отбор проводился большей частью эмпирически, исходя из оценки способно-



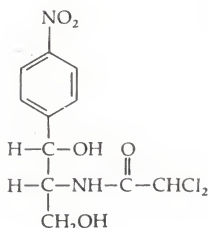
Стрептомицин (аминогликозид)



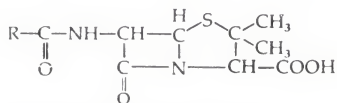
Тетрациклин



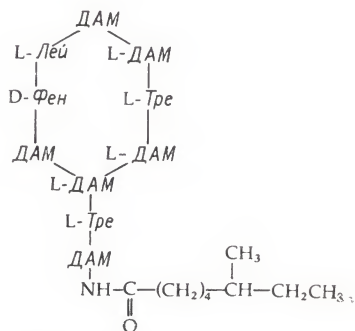
Эритромицин (макролид)



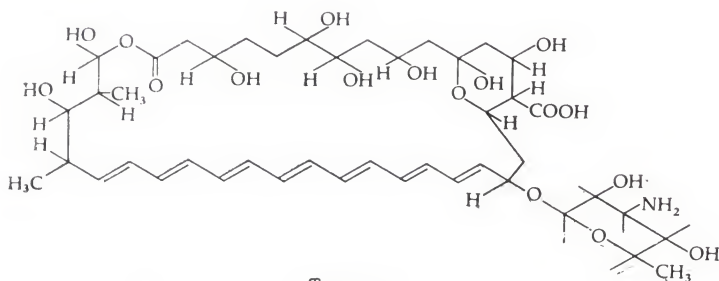
Хлорамфеникол



Пенициллины (β -лактам)



Полимиксин В (полипептид)



Филипин

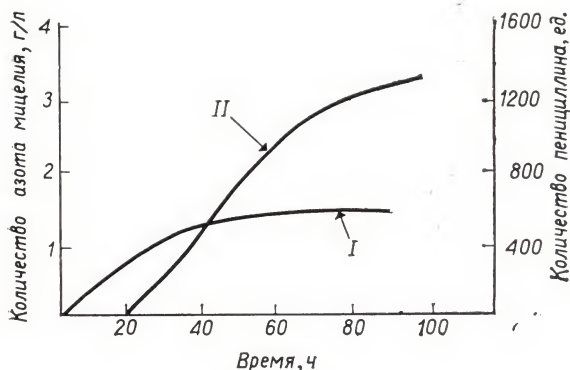


Рис. 31.3. Кинетика роста *Penicillium chrysogenum* (кривая I) и образования пенициллина (кривая II). [Brown W. E., Peterson W. H., Factors Affecting Production of Penicillin in Semi-Pilot Equipment, Ind. Eng. Chem., 42, 1769 (1950).]

сти множества мутантных клонов образовывать антибиотик. Однако по мере получения новых данных о путях биосинтеза антибиотиков подходы к отбору становятся все более обоснованными. В настоящее время можно отобрать штаммы, в которых регуляция синтеза известных предшественников данного антибиотика изменена в результате мутации. Такие штаммы образуют большие количества предшественников, а иногда и большие количества конечного продукта — антибиотика.

Синтез антибиотиков начинается только после почти полного прекращения роста микроорганизмов, продуцирующих их (рис. 31.3). Антибиотики принадлежат к группе микробных продуктов, которые называют *вторичными метаболитами*, поскольку их синтез не связан с ростом микроорганизмов. Регуляторные механизмы, которые включают синтез вторичных метаболитов, как только прекращается рост, — очень интересный, но почти неисследованный аспект биохимической регуляции.

Хотя все микроорганизмы, используемые для производства антибиотиков, являются аэробами и выращиваются в условиях интенсивной аэрации, процесс образования антибиотиков в технической литературе часто называют ферментацией. Антибиотики получают с помощью так называемых *методов глубинного культивирования* в глубоких ферментерах из нержавеющей стали, содержимое которых интенсивно аэрируют и перемешивают. Аэрация крайне необходима для повышения продуктивности, и стоимость энергии, расходуемой на нее, составляет значительную часть стоимости продукта.

Когда микроорганизмы выращивают в аэробных условиях в ферментерах емкостью в десятки тысяч литров в богатой неселективной среде, возникает множество проблем, связанных с необходимостью поддержания культуры, что совершенно необходимо для успешного производства антибиотиков. Это стало ясно при производстве пенициллина. Многие

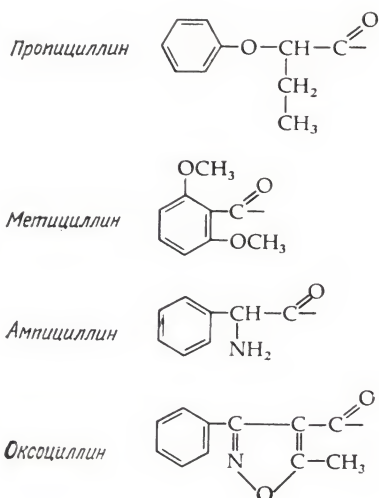


Рис. 31.4. Некоторые полусинтетические пенициллины, используемые в настоящее время в клинике; справа приведены структурные формулы введенных химически ацильных заместителей (рис. 31.2).

бактерии синтезируют фермент пенициллиназу, катализирующую гидролитическое расщепление четырехчленного β -лактамного кольца пенициллина, в результате чего теряется антибиотическая активность препарата. Загрязнение ферментера бактериями, продуцирующими пенициллиназу, может привести к полному разрушению продуцируемого пенициллина.

Иногда антибиотики подвергают последующей химической модификации. Один из примеров — химическое замещение ацильной группы природных пенициллинов (эта группа обозначена в структурной формуле, приведенной на рис. 31.2, буквой R) с образованием разнообразных полусинтетических пенициллинов (рис. 31.4). Еще один пример — каталитическое отщепление хлористого водорода от хлортетрациклина с образованием более активного соединения тетрациклина.

УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРОБОВ К АНТИБИОТИКАМ

Эра антибиотиков в медицине началась примерно 30 лет назад, однако вопрос о том, как долго она продлится, остается открытым. Хотя поиски новых антибиотиков продолжают идти с прежней интенсивностью, частота их обнаружения резко снизилась; большинство действительно эффективных антибиотиков, видимо, уже открыто. Кроме того, с угрожающей скоростью стали появляться штаммы патогенных бактерий, устойчивых к антибиотикам. В то время, когда пенициллин G только начал применяться в медицине, большинство штаммов стафилококков были к нему чувствительны, а в настоящее время практически все известные стафилококковые инфекции устойчивы к этому антибиотику. Еще более важная

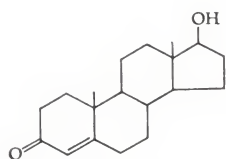
проблема — появление штаммов бактерий, устойчивых одновременно к нескольким антибиотикам, так называемых *штаммов с множественной устойчивостью*. Например, с 1954 по 1964 г. частота встречаемости штаммов *Shigella* с таким свойством в больницах Японии увеличилась с 0,2 до 52%.

Устойчивость бактерий к антибиотикам иногда обусловлена мутацией в хромосомном гене, которая изменяет структуру мишени в клетке. Хорошим примером такого рода служит устойчивость к стрептомицину, приобретаемая в результате мутации. Этот антибиотик нарушает синтез белка в микроргане, прикрепляясь к одному из белков 30 S-субъединицы рибосомы. Некоторые мутации в гене, кодирующем этот рибосомный белок, нарушают его способность связывать стрептомицин, но не влияют существенным образом на работу рибосомы; поэтому клетка с подобной мутацией становится устойчивой к стрептомицину.

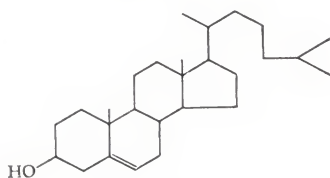
Устойчивость может быть обусловлена и проникновением в бактериальную клетку плазмиды, принадлежащей к классу *факторов резистентности* (R-факторы; гл. 15). Эти плазмиды часто обеспечивают устойчивость одновременно к нескольким антибиотикам. Они несут гены, кодирующие ферменты, которые катализируют химические модификации антибиотиков; в результате получаются производные, лишённые антибиотической активности. Например, устойчивость к стрептомицину, которую сообщает клетке R-фактор, может быть обусловлена аденилированием, фосфорилированием или ацетилированием антибиотика; все эти химические модификации приводят к утрате антибиотической активности. Множественная устойчивость штаммов бактерий почти всегда обусловлена R-факторами. Поскольку эти плазмиды имеют широкий спектр хозяев и достаточно часто передаются от одного вида бактерий к другому, их распространение в естественных бактериальных популяциях, безусловно, самый серьёзный аспект проблемы устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Если эта проблема не будет решена, терапевтическая эффективность антибиотиков в будущем вряд ли сохранится.

ПРЕВРАЩЕНИЯ СТЕРОИДОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БАКТЕРИЙ

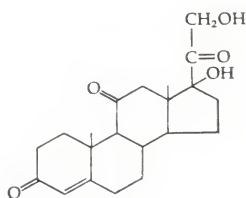
Холестерин (рис. 31.5) и химически близкие стеронды — структурные компоненты клеточных мембран эукариот и, следовательно, универсальные химические компоненты эукариотических организмов. В ходе эволюции у позвоночных выработались специальные метаболические пути для превращения этих универсальных компонентов клетки в новые функционально специализированные стеронды — *стероидные гормоны*, участвующие в регуляции развития и метаболизма животных. Стероидные гормоны образуются в специализированных органах путем вторичных метаболических превращений



Тестостерон



Холестерин



Кортизон

Рис. 31.5. Структурная формула холестерина (C_{27} -стероида) и двух стероидных гормонов млекопитающих, для которых холестерин является биосинтетическим предшественником,—кортизона (C_{21} -стероида) и тестостерона (C_{19} -стероида).

холестерина — C_{27} -стероида. Кортикостероидные гормоны синтезируются в коре надпочечника; это C_{21} -соединения, например *кортизон* (рис. 31.5); половые гормоны синтезируются в яичниках и в семенниках и являются C_{17} - или C_{19} -соединениями (рис. 31.5). Таким образом, у позвоночных в результате сравнительно небольших изменений основной стероидной структуры возникли два новых подкласса стероидных молекул с высокоспецифичными физиологическими функциями и с высокой биологической активностью.

Выяснение структуры и основных функций стероидных гормонов млекопитающих было завершено около 30 лет назад, но они стали применяться только в 1950 г. после того, как было обнаружено, что кортизон чудесным образом снимает симптомы ревматоидного артрита. В настоящее время кортизон и его производные широко используются для лечения различных воспалительных процессов; кроме того, стероидные гормоны нашли применение при лечении некоторых форм рака и в качестве противозачаточных средств. Производство этих соединений стало в настоящее время важной отраслью промышленности.

Поскольку стероидные гормоны образуются в организме млекопитающего в ничтожных количествах, было очевидно,

что их выделение из организма животных не может обеспечить потребностей в этих препаратах. Поэтому химики попытались синтезировать стероидные гормоны из растительных стеролов, которые достаточно широко распространены и могут быть получены без больших затрат. Однако вскоре выявилось одно важное в химическом отношении препятствие. У всех кортикостероидных гормонов в положении 11 ядра

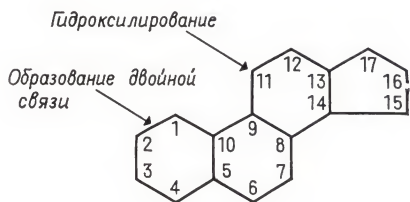


Рис. 31.6. Стероидное ядро с указанием нумерации атомов углерода и локализации двух важных модификаций, осуществляемых микроорганизмами.

находится атом кислорода (рис. 31.6); он включается путем специфического ферментативного гидроксильрования биосинтетического предшественника в надпочечнике. Гидроксильровать стероидное ядро химически не составляет труда, но ввести гидроксильную группу в определенное положение необычайно сложно, и основным препятствием в разработке экономически выгодного промышленного производства по синтезу кортизона из более дешевых стероидов стал именно этот фактор.

Затем было обнаружено, что многие микроорганизмы — грибы, актиномицеты и бактерии — способны осуществлять частичное окисление стероидов, вызывая небольшие, весьма специфичные структурные изменения в них. Локализация и характер этих изменений часто определяются видом бактерий, так что, выбирая подходящий микроорганизм, можно получить ту или иную модификацию в стероидной молекуле. Особенно большое практическое значение имеет, конечно, гидроксильрование стероидного ядра в 11-м положении, которое могут осуществлять *Rhizopus* и другие грибы. Большое промышленное значение (особенно при синтезе производного кортизона преднизолон) имеет также процесс образования двойной связи между атомами, находящимися в 1-м и 2-м положениях, путем дегидрирования, осуществляемого *Corynebacterium*.

Большинство субстратов рассмотренных выше окислительных превращений, осуществляемых микроорганизмами, нерастворимо в воде. Кроме того, модификация субстрата, которую могут осуществить микроорганизмы, не обеспечивает их ни углеродом, ни энергией. Поэтому стероидные субстраты добавляют в культуру к моменту прекращения роста микробов в виде тонкодиспергированной суспензии. Трансформиро-

ванные продукты выделяются в среду. Несмотря на почти полную нерастворимость субстратов в воде, многие из этих превращений происходят быстро и с высоким выходом.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ БОРЬБЫ С НАСЕКОМЫМИ

В гл. 22 было описано образование кристаллических включений в спорулирующих клетках некоторых видов *Bacillus*. Все эти бациллы (*Bacillus thuringensis* и родственные формы) патогенны для личинок (гусениц) некоторых насекомых, в частности для ряда насекомых, принадлежащих к перепончатокрылым (бабочки и близкие насекомые). После выделения кристаллических включений из спорулирующих бактериальных клеток было показано, что у личинок, питавшихся листьями, которые покрыты очищенными кристаллами, воспроизводятся все первичные симптомы, характерные для заболевания, развивающегося у насекомых при естественном заражении. Кристаллы состоят из белка, нерастворимого в воде при нейтральных или слегка кислых условиях, но растворимого в разведенной щелочи. Содержимое кишечника личинки имеет щелочной pH, так что когда кристаллы достигают кишечника, они растворяются и частично гидролизуются. Этот модифицированный белок действует на вещество, которое скрепляет клетки кишечника друг с другом, вследствие чего содержимое кишечника свободно проникает в кровь насекомого. Кровь сильно защелачивается, и развивается общий паралич. Смерть, которая наступает гораздо позже, видимо, является результатом проникновения бактерий в ткани организма.

Кристаллы белка обладают весьма избирательной токсичностью для личинок многих перепончатокрылых, но совершенно не токсичны для других животных (в том числе для всех позвоночных) и для растений. Таким образом, они являются идеальным средством борьбы с многими опасными насекомыми — вредителями, уничтожающими урожай сельскохозяйственных культур. Все это привело в последнее время к развитию новой отрасли микробиологической промышленности — крупномасштабному производству токсина, который вводится в распыляемые средства, используемые для защиты растений от насекомых. При промышленном производстве белковый токсин в химически чистом виде не выделяют. Вместо этого выращивают большое количество бацилл, образующих кристаллы, собирают их после начала споруляции вместе с кристаллами, высушивают и вводят в порошок.

ПОЛУЧЕНИЕ ДРУГИХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

После того как стало ясно, что для синтеза сложного органического соединения (например, антибиотика) часто дешевле использовать какой-либо микроорганизм, чем синтезировать его искусственно, началось широкое применение микроорганизмов в химической и фармацевтической промышленности. Такой способ синтеза имеет большое преимущество и при получении оптически активных соединений, поскольку химический синтез дает рацемические смеси, которые затем приходится разделять.

Как уже обсуждалось выше, получение ацетона и бутанола с помощью микробов, бывших в свое время основным источником этих соединений, сейчас заменено почти повсеместно химическим синтезом. Тем не менее многие сравнительно простые и дешевые органические соединения получают все-таки микробиологическими методами. К этим соединениям относится глюконовая кислота, которую образуют *Aspergillus niger* и уксуснокислые бактерии, и лимонная кислота, продуцируемая в клетках гриба *A. niger*.

Наглядный пример рентабельности промышленной микробиологии — производство двух витаминов, витамина B₁₂ и рибофлавина. Оба они в настоящее время синтезируются преимущественно микробиологическими методами. Витамин B₁₂ продуцируется некоторыми видами *Pseudomonas*. Хотя выход витамина очень низок, процесс все-таки весьма рентабелен, учитывая высокую стоимость продукта: из-за сложной структуры синтезировать витамин B₁₂ искусственно очень трудно. Рибофлавин (витамин B₂) — гораздо более простое соединение, его легко синтезировать. Тем не менее этот витамин пока получают микробиологическими методами. Дело в том, что некоторые патогенные для растений грибы (*Ashbya gossypii* и *Eremothecium ashbyi*) образуют этот витамин в больших количествах и выделяют избыток его в среду. В результате генетического отбора и совершенствования методов культивирования были получены штаммы, образующие рибофлавин в таком большом количестве, что витамин легко кристаллизуется в культуральной среде.

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Получение ферментов независимо от того, чистые они или частично очищены, — важная отрасль промышленной микробиологии. Микробные ферменты широко используются в медицине и промышленности (табл. 31.4).

ТАБЛИЦА 31.4

ПЕРЕЧЕНЬ НЕКОТОРЫХ МИКРОБНЫХ ФЕРМЕНТОВ, ПОЛУЧАЕМЫХ
В ПРОМЫШЛЕННЫХ МАСШТАБАХ

Название фермента	Микроорганизм-источник	Применение	Катализируемая реакция
Диастаза	<i>Aspergillus orizae</i>	Производство глюкозных сиропов; лекарство, способствует пищеварению	Гидролиз крахмала
Кислотоустойчивая амилаза	<i>A. niger</i>	Способствует пищеварению	То же
Инвертаза	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Изготовление сладостей (предупреждает кристаллизацию сахарозы)	Гидролиз сахарозы
Пектиназа	<i>Sclerotinia libertina</i>	Осветление фруктовых соков	Гидролиз пектина
Протеаза	<i>A. niger</i>	Способствует пищеварению	Гидролиз белка
Протеаза	<i>B. subtilis</i>	Удаление желатинизированных пленок для извлечения серебра	То же
Стрептокиназа	<i>Streptococcus</i> sp.	Способствует заживлению ран и ожогов	Гидролиз белков
Коллагеназа	<i>Clostridium histolyticum</i>	То же	Гидролиз белка (коллагена)
Липаза	<i>Rhizopus</i> sp.	Способствует пищеварению	Гидролиз липидов
Целлюлаза	<i>Trichoderma konigi</i>	То же	Гидролиз целлюлозы

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМАХ

Микроорганизмы широко используются для биологических испытаний и тестов, при определении концентрации различных соединений в сложных химических смесях. Такие тесты можно применять для количественного определения факторов роста, антибиотиков и других специфических ингибиторов роста.

Принцип определения факторов роста очень прост. Готовят среду, содержащую все питательные вещества, необходимые для роста тестируемого организма, за исключением того вещества, которое хотят определить. Если добавить это вещество в среду в небольшом количестве, организм будет расти со скоростью, пропорциональной количеству вещества. Таким образом, на первом этапе определяют соотношение между количеством добавленного лимитирующего вещества

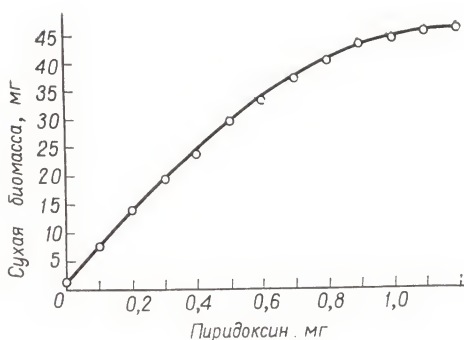


Рис. 31.7. Микробиологический метод определения пиридоксина. Кривая представляет собой зависимость между весом сухой биомассы и количеством внесенного пиридоксина. Использовался мутант плесени *Neurospora*, нуждающийся в пиридоксине. [Stokes J. L., Larsen A., Woodward C. R., Jr., Foster J. W., A Neurospora Assay for Pyridoxine, J. Biol. Chem., 150, 19 (1943).]

и скоростью роста микроорганизма (т. е. определяют коэффициент выхода; см. гл. 8). Пример определения этого соотношения приведен на рис. 31.7.

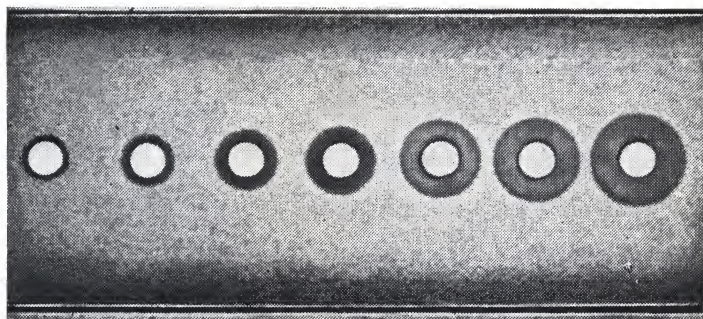
Если пробы материала, исследуемого на присутствие данного фактора роста, добавить в основную среду, то его количество в пробах можно определить по интенсивности роста. В биологических тестах часто используют молочнокислые бактерии, поскольку они нуждаются в многочисленных факторах роста. Изменяя основную среду так, чтобы лимитирующими были разные вещества, можно с помощью одного и того же микроорганизма определить большое число различных аминокислот и витаминов. Еще одно преимущество молочнокислых бактерий в таких исследованиях состоит в том, что интенсивность их роста можно косвенно оценить по количеству образовавшейся молочной кислоты. Содержание витаминов в продуктах питания до сих пор определяют биологическими методами, но для определения аминокислот в настоящее время применяют химические методы. Кроме того, биологические методы определения — незаменимое средство обнаружения и очистки новых факторов роста.

Количественное определение антибиотиков и других антимикробных веществ проводится с помощью так называемого метода *стерильных зон*, который первоначально был разработан для определения пенициллина. Агаризованную среду плотно засевают индикаторными бактериями и на поверхность агара ставят ряд стеклянных цилиндров. В каждый из них помещают раствор антибиотика известной концентрации и чашку инкубируют до тех пор, пока бактерии не вырастут. Во время инкубации антибиотик диффундирует в окружающий агар и образует стерильную зону подавления роста. Диаметр этой зоны есть функция концентрации антибиотика в растворе, который был внесен в цилиндр. Калибровочная кривая, связывающая диаметр зоны подавления роста с концентрацией антибиотика, позволяет исследовать растворы,

Рис. 31.8. Биологический метод определения пенициллина. Кювету с питательным агаром засеяли исследуемыми бакте-

риями и нанесли на бумажные диски разное количество пенициллина — от 10 ед. на левом диске до 10 000 — на

правом. Измеряя площадь зон, где рост бактерий подавлен, можно построить кривую зависимости подавления роста от концентрации пенициллина.



содержащие антибиотик в неизвестной концентрации. В другом варианте стеклянные цилиндры заменяют бумажными дисками, смоченными растворами антибиотика (рис. 31.8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Книги

- Casida L. E.*, 1968, *Industrial Microbiology*, New York, Wiley.
- Foster E. E., Nelson R. E., Speck M. L., Doetsch R. N., Olson J. C.*, 1957, *Dairy Microbiology*, Englewood Cliffs, N. J., Prentice-Hall.
- Freed M.*, 1966, *Methods of Vitamin Assay*, New York, Interscience Publishers.
- Freitas Y. M., Fernandes F.*, 1971, *Global Impacts of Applied Microbiology*, Bombay, The Examiner Press.
- Zähner H., Maas W. K.*, 1972, *Biology of Antibiotics*, New York, Springer-Verlag.

Обзоры

- Amerine M. S., Kunkee R. C.* (1968), *Microbiology of Wine Making*, Ann. Rev. Microbiol., 22, 323.
- Rogoff M. H.* (1966), *Crystal-Forming Bacteria as Insect Pathogens*, Adv. Appl. Microbiol., 8, 29.

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

- Acetobacter* III, 119, 134
 — *pasteurianum* I, 246
 — *xylinum* II, 117, 118, III, 136
Acholeplasma I, 174
 — *blastoclasticum* II, 80
Achromatium III, 92, 93
Acidaminococcus III, 266
Acinetobacter II, 29, III, 119, 141
Actinomyces III, 220, 221, 224, 242
 — *antibioticus* II, 105
 — *israelii* III, 246, 361
 — *streptomycini* II, 105
Actinoplanes III, 222, 252, 253
Aeromonas III, 145, 151, 155, 156,
 160—161
 — *hydrophila* III, 150, 154, 161
 — *punctata* III, 148, 161
 — *shigelloides* III, 161
Agrobacterium III, 119, 120, 128—129
 — *tumefaciens* II, 118, 129
Alcaligenes III, 119, 128—129
 — *eutropha* I, 181, III, 99, 101
 — *paradoxus* I, 181, III, 99
Allium III, 315
Allomyces I, 149
Alnus III, 352
Alteromonas haloplanktes II, 70
Amoebobacter II, 131, III, 67
Anabaena II, 131
 — *cylindrica* III, 58—59
 — *flosaquae* III, 174
Ancalomicrobium I, 196, II, 131
 — *adetum* I, 198
Anobiidae, III, 350
Anobium emarginatum III, 353
Anomalops III, 304
Anopheles III, 415, 418
Aphanocapsa III, 49
Apion pisi III, 354
Aquaspirillum III, 119, 138
Arizona III, 154, 155
Arthrobacter I, 178, 179, III, 220—
 224, 240, 241
 — *atrocyaneus* III, 336
 — *crystallopoietes* III, 236, 237, 238
 — *globiformis* III, 241
Aspergillus flavus III, 411
 — *nidulans* II, 324
 — *niger* III, 455
 — *oryzae* III, 432, 455
Asticcacaulis I, 210, III, 119, 130—
 131
Azomonas III, 119, 132
Azotobacter I, 69, 70, 95, III, 119,
 120, 131—133
 — *vinelandii* II, 94, III, 118, 132

Bacillus I, 76, II, 118, III, 185
 — *anthracis* I, 23, II, 118, III, 189,
 363, 365, 368, 408
 — *cereus* III, 185, 189, 190, 208
 — — var. *mycoides* III, 191
 — *circulans* I, 176, III, 216
 — *coagulans* II, 80
 — *fastidiosus* III, 189, 193
 — *globisporus* II, 80
 — *licheniformis* III, 28, 189, 212
 — *macerans* III, 193
 — *megaterium* II, 81, 88, 92, 118,
 139, III, 28, 185, 214
 — *mycoides* I, 161
 — *pasteurii* I, 76, III, 187, 189, 194
 — *polymyxa* I, 176, III, 28, 131, 189,
 194, 216, 445
 — *pumilus* III, 28
 — *sphaericus* III, 187, 194
 — *stearothermophilus* I, 80—81
 — *subtilis* I, III, 245, II, 80, 81, 105,
 148, III, 28, 189, 209, 445
 — var. *niger* III, 28
 — *thuringensis* III, 189, 191, 192,
 211
Bacterium erythrogenes III, 438
 — *linens* III, 438
Bacteroides III, 267
 — *succinogenes* III, 358
Balantidium III, 361
 — *coli* III, 415
Bdellovibrio III, 119, 140
 — *bacteriovornas* III, 338—343
 — *starrii* III, 342
 — *stolpii* III, 342
Beggiatoa II, 143, III, 92, 93, 182
Beijerinckia III, 119, 132
Benekea II, 138, III, 145—147, 150,
 151, 155, 156, 160—161
 — *alginolytica* III, 150
 — *parahemolytica* III, 145, 161
Betabacterium III, 232
Bifidobacterium III, 220—224, 242,
 361
Blastomyces dermatitidis III, 411, 412
Bodo I, 108
Bordetella pertussis III, 376, 402
Botrytis cinerea III, 429
Branhamella III, 119, 141

Brucella abortus III, 403
 — *melitensis* III, 403
 — *suis* III, 403
Butyribacterium rettgeri III, 32
Butyrovibrio fibrisolvens III, 358

Caedobacter III, 348
Campylobacter III, 119, 140
Candida albicans III, 360, 361
 — *lipolytica* III, 434
Caulobacter I, 200, 201, II, 53, 112, III, 119, 130
 — *crescentus* II, 93
Cephalosporium spp. III, 445
Cerambycidae III, 350
Ceratiomyxa I, 160
Ceratium I, 138
Chlamydia III, 409
 — *psittaci* III, 409
 — *trachomatis* III, 409—410
Chlamydobotrys I, 134
Chlamydomonas I, 128
 — *reinhardi* II, 324, III, 328—331
Chlorobium I, 191, III, 74
 — *limicola* III, 75
 — *thiosulfatophilum* II, 136
Chloroflexus I, 191, III, 74
 — *aurantiacus* I, 192
Chlorogonium I, 128, 129
Chlorophyta I, 127
Chondromyces III, 169, 170
 — *apiculatus* III, 171
 — *crocatus* I, 84, III, 170, 1
 — *pediculatus* III, 172
Chromacium okenii I, 176
Chromatium III, 67
 — *okenii* III, 68
 — *vinosum* III, 68
Chytridiinium I, 137, 138
Citobacter III, 154—155
Cladonia cristatella III, 333
Clathrochloris II, 131, III, 77
Claviceps purpurea III, 411
Clostridium I, 286, III, 186, 195—206
 — *acetobutylicum* III, 199, 441
 — *acidiurici* III, 203
 — *botulinum* III, 196, 199, 201, 366, 371, 406
 — *butylicum* III, 198
 — *cochlearium* III, 201
 — *cylindrosporum* III, 203
 — *fallax* III, 183
 — *histolyticum* III, 202—203, 455
 — *kluyveri* III, 205
 — *lactoacetophilum* III, 198
 — *novyi* III, 407
 — *paraputrificum* III, 187
 — *pastorianum* I, 69—70
 — *pectinovorum* III, 187
 — *perfringens* III, 187, 199, 201, 372, 407

Clostridium propionicum III, 201
 — *septicum* III, 187, 407
 — *sporogenes* III, 201
 — *sticklandii* III, 201
 — *tertium* III, 187
 — *tetani* III, 196, 199, 201—205, 407
 — *tetanomorphum* III, 201
 — *thermoaceticum* III, 204
Coccidioides immitis III, 411, 41
Coptosoma III, 308
 — *scutellatum* III, 308
Corynebacterium I, 286, III, 220—223, 235, 240
 — *diphtheriae* III, 235, 240, 365, 376—378, 401
Coscinodiscus granii I, 133
Cosmarium I, 131
Cristispira I, 207
Crithida oncopelti III, 343
Cryptococcus neoformans III, 411, 412
Cyanidium caldarium III, 61
Cyanophora III, 328, 329
 — *paradoxa* III, 310, 329
Cyclotella nana I, 133
Cylindrospermum I, 191
Cyrculionidae III, 352
Cystobacter III, 169
 — *fuscus* III, 172
Cytophaga III, 175—178
 — *johnsonae* III, 177

Dasytricha III, 359
Dermatophilus I, 180, III, 247
Dermocarpa I, 180—189
Desulfotomaculum III, 186, 206, 261
Desulfovibrio I, 69, 70, III, 257, 261, 263—265
 — *africanus* III, 262
 — *desulfuricans* III, 262
 — *gigas* III, 262
 — *salexigins*, III, 262
 — *vulgaris* III, 262
Dictyostelium I, 108
Didinium I, 108
Didymium I, 161
Dinamoebidinium I, 132
Dinoclonium I, 138
Diplococcus
Diplodinium III, 359
Donax vittatus III, 300

Ectothiorhoaospira III, 67, 69
Ectothiospira halophila III, 84
Edwardsiella III, 154
Ellorbiophyra donacis III, 300
Entamoeba III, 361
 — *histolytica* III, 363, 416, 417

Enterobacter I, 69, III, 144—147,
149—150, 152—155
— *aerogenes* I, 246, III, 148, 158, 165,
166, 363

Enterobacteriaceae III, 144

Entodinium III, 359

Epidermophyton III, 411

Epidinium III, 359

Ernobius III, 353

Erwinia III, 145—147, 151, 154, 155
— *amylovora* II, 314, III, 154, 159,
340

— *carotovora* III, 150, 159

— *herbicola* III, 150, 159

Escherichia III, 145—157

— *coli* I, 246, 286, 287, II, 17, 70,
72, 80, 84, 301, III, 144, 148, 153,
157, 164, 361, 369

Euglena I, 127

— *gracilis* I, 128

Euglenaspirogyra I, 98

Euglenophyta I, 126

Euprymna III, 303

— *morsei* III, 303

Fagus sylvatica III, 316

Fischerella I, 190

Flexibacter III, 175

— *columnaris* III, 178

Francisella tularensis III, 403

Fusobacterium III, 267

— *polymorphum* II, 80

Gaffkya homari II, 80

Gallionella III, 97—98

Geodermatophilus III, 220—222, 247—
249

Geotrichia II, 131

Geotrichum candidum III, 413, 438

Giardia intestinalis III, 416

— *lamblia* III, 414—416

Glenodinium foliaceum I, 137

Glossina III, 307

Gluconobacter III, 119, 134

— *suboxidans* I, 246

Glyptotermes III, 296

Gymnodinium I, 138

Haemophilus influenzae II, 80

Hafnia III, 154, 155

Halobacterium II, 73, 131, III, 80—
84

— *salinarium* II, 70, 72, 86

Halococcus II, 97

Hartmannella III, 420

Hematodinium I, 137, 138

Hemophilus influenzae II, 279, III,
402

Histoplasma capsulatum III, 411, 413

Humulus lupulus III, 431

Hydrogenomonas III, 99

Hyphomicrobium III, 111, 115

— *vulgare* I, 197

Indicator III, 359

Isospora belli III, 415

— *humini* III, 415

Isostricha III, 359

Klebsiella III, 154—155

Labyrinthula I, 111

Lactobacillus I, 286, III, 33, 219, 220,
225, 231, 428, 429

— *acidophilus* III, 32, 33

— *brevis* III, 33, 231

— *buchneri* III, 33, 231

— *bulgaricus* III, 32, 33, 438

— *casei* I, 106, III, 32

— *cellobiosus* III, 33

— *delbrückii* II, 80, III, 32—33

— *fermenti* II, 106, III, 32

— *jensenii* II, 32, 33

— *jugurti* III, 32, 33

— *lactis* II, 80, III, 32—33

— *leichmanii* III, 32—33

— *plantarum* III, 227

— *salivarius* III, 32

— *trichodes* III, 429

Lamprocystis II, 131, III, 67

Lampropedia I, 195

Lecanora rubina III, 331

Leishmania braziliensis III, 415

— *donovani* III, 415, 418—419

— *tropica* III, 415

Leptospira I, 207

— *canicola* III, 407

— *icterohaemorrhagiae* III, 407

— *ponoma* III, 407

Leptothrix III, 119, 137

Leuconostoc II, 118, III, 219—222,
428, 429, 439

— *mesenteroides* II, 119

Leucothrix III, 178—182

Lyticum III, 348

Macromonas III, 92

Mastigocladus laminosus II, 80

Mastigophora I, 139

Mastotermes III, 353

Megasphaera III, 266

Melittangium III, 169

— *lichenicolum* III, 172

Metabacterium III, 188

— *polyspora* III, 188

Metadinium III, 359

Methanobacillus omelianskii III, 259

Methanobacterium III, 259

Methanobacterium ruminantium III, 258, 358
 — *thermoautotrophicum* III, 258
Methanococcus III, 259
Methanosarcina barkeri III, 258
Methanospirillum III, 259
Methylobacter III, 108
Methylococcus III, 108, 109
Methylocystis III, 108
Methylomonas III, 107, 108, 109
 — *methanica* III, 107
Methylosinus III, 108, 109, 110
Micrasterias I, 131
Micrococcus III, 219, 220, 222, 224, 233, 234
 — *cerolyticus* III, 360
 — *cryophilus* III, 80
 — *halodenitrificans* II, 70, 72
 — *luteus* I, 246, II, 86
 — *lysodeikticus* I, 246, 286
 — *radiodurans* II, 84
Microcylus II, 131
Microcystis II, 131
Micromonas I, 166
Micromonospora I, 179, III, 222, 252
 — *chalcea* I, 180, III, 253
Microsporium III, 410, 411
 — *canis* III, 411
Microthiospira III, 93
Moraxella III, 119, 141
 — *lacunata* III, 29
 — *osloensis* III, 29, 141
Mycobacterium I, 286, III, 220—223, 235
 — *fortuitum* III, 240
 — *tuberculosis* III, 235, 239, 401
Mycoplasma I, 173
Myxococcus spp III, 168, 169, 171
 — *fulvus* I, 185, 193
 — *xanthus* III, 170, 172
Myxosarcina I, 188, 190

Naegleria III, 415, 420
Neisseria III, 119, 141, 361
 — *catarrhalis* III, 29, 141
 — *flava* III, 29
 — *flavescens* III, 29
 — *gonorrhoeae* II, 80
 — *meningitidis* III, 29, 402
 — *sicca* III, 29
Neurospora I, 33, 155
 — *crassa* II, 324
Nitrobacter III, 88
 — *winogradskyi* III, 90
Nitrococcus III, 90
 — *mobilis* III, 90
Nitrosococcus III, 90
Nitrosocystis oceanus III, 88
Nitrosolobus III, 90
 — *multiformis* III, 88

Nitrosomonas I, 170, III, 88, 90
 — *europaea* II, 94, III, 88
Nitrosospira III, 90
 — *briensis* III, 90
Nitrospina III, 90
 — *gracilis* III, 90
Nocardia III, 220—222, 235
 — *asteroides* III, 240
 — *opaca* III, 99, 100

Noctiluca I, 137, 138
Nostoc III, 333

Oceanospirillum III, 119, 138
Ophryoscolex III, 359
Oscillatoria I, 190, II, 131, 133, III, 60,
 — *redekei* III, 174

Paramecium aurelia III, 344
Pasteurella III, 144, 155
Paulinella III, 328
Pediculus III, 352
Pedococcus III, 219, 220, 225, 232, 428, 429
 — *halophilus* II, 70
Pelaiiena III, 328
Pelodictyon I, 189, II, 136, III, 74
 — *clathratiforme* III, 75
Pelonema II, 131
Penicillium I, 153
 — *chrysogenum* III, 446
 — *roquefortii* III, 438
Peptococcus III, 267
Peptostreptococcus III, 267
 — *elsdenii* III, 359
Phaeophyta I, 127
Phlebotomus III, 415, 418
Photobacterium II, 138, III, 145, 147, 150, 151, 155, 156, 160, 161
 — *phosphoreum* III, 150
Photoblepharon palpebratus III, 304
Plectonema III, 60
Plesiomonas III, 161
Polyangium III, 169, 172
Polykrikos I, 138
Polymastigina III, 348
Porphyridium III, 49
Propionobacterium III, 220—223, 242, 438, 439
Prosthecochloris III, 74
 — *aestuarii* III, 75
Prosthecomicrobium II, 131
 — *pneumaticum* I, 186
Proteus III, 144—147, 150, 152, 155, 159, 160
 — *mirabilis* II, 287
 — *vulgaris* I, 59, 116, II, 81
Protozoa I, 139—145
Providencia III, 155

Pseudoanabaena II, 131, III, 51
Pseudogloiophloea confusa III, 310
Pseudomonas I, 71, 182, II, 28, 29, 49, III, 119
— *acidovorans* I, 246, II, 80, III, 17, 25, 27, 126
— *aeruginosa* I, 246, II, 118, III, 17, 27, 123, 124
— *alboprecipitans* II, 80
— *caryophylli* III, 27
— *cepacia* I, 50, III, 17, 27, 125, 126
— *cichorii* III, 27
— *delafieldii* III, 25, 27
— *diminuta* III, 27
— *facilis* III, 25, 27, 99—100
— *flava* I, 181
— *fluorescens* III, 27, 124
— *glycinea* III, 27
— *mallei* III, 27, 125
— *maltophilia* I, 246, III, 27, 127
— *marginata* III, 27
— *marina* II, 70
— *mendocina* III, 27
— *mori* III, 27
— *phaseolicola* III, 27
— *pickettii* III, 27
— *pseudomallei* III, 17, 27, 125, 126
— *putida* I, 246, III, 17, 27, 124
— *ruhlandii* III, 99
— *saccharophila* III, 25, 27, 99
— *savastanoi* III, 27
— *solanacearum* III, 27
— *stutzeri* III, 27, 123
— *syringae* III, 27, 124
— *tabaci* III, 339
— *testosteroni* III, 17, 25, 27, 126
— *tomato* III, 27
— *vesicularis* III, 27
Pyrrophyta I, 126

Rhizobium III, 119, 128—130, 319—325
— *leguminosarum* I, 129
— *lupini* I, 129
Rhizopus I, 151, III, 455
Rhodnius III, 350
Rhodomicrobium I, 195, III, 69
— *vannielii* III, 70
Rhodophyta I, 126
Rhodopseudomonas III, 69
— *acidophila* I, 199
— *palustris* II, 93, III, 71
— *sphaeroides* II, 85, 93, III, 71
Rhodospirillum III, 69
— *fulvum* II, 93, III, 70
— *molischianum* II, 121
— *rubrum* II, 95, III, 70, 72
— *tenuis* III, 70
Ruminococcus III, 266
— *albus* III, 358
— *flavofaciens* III, 358

Saccharomyces beticus III, 429
— *cerevisiae* I, 103, 114, 158, II, 50, 324, III, 427, 431, 433, 455
— — var. *ellipsoideus* III, 428, 429
— *cheresiensis* III, 429
— *fermenti* III, 429
— *pasteurianus* III, 432
Salmonella III, 145—147, 150—156
— *choleraesius* III, 400
— *paratyphi* III, 157
— *schottmülleri* III, 400
— *typhimurium* I, 66, III, 151, 153, 157, 376, 400
— *typhosa* III, 400, 145, 150, 153, 157
Saprospira III, 178
— *albida* III, 179
— *grandis* III, 179
Sarcina spp. I, 177, III, 219, 220, 224, 233
— *maxima* III, 233
— *morruhae* II, 70
— *ventriculi* III, 234, 235
Sarcodina I, 140
Schizosaccharomyces I, 159
Sclerotinia libertina III, 455
Selenomonas III, 267, 268
Serratia III, 144—150, 152, 155
— *marcescens* III, 148, 154, 158
Shigella III, 145—147, 151—156
— *dysenteriae* II, 305, III, 371, 377, 400
— *flexneri* III, 153
Simonsiella III, 178, 179, 180
Sitodrepa III, 354
— *panicea* III, 353, 354
Sitophilus granarius III, 350, 351
Sorangium III, 168
Sphaerotilus III, 97, 119, 136, 137
— *discophorus* III, 138
— *natans* I, 183, III, 138
Spirillum III, 119, 120, 138, 139
— *sepiens* I, 182, II, 70
— *volutans* I, 167, III, 139
Spirochaeta plicatilis I, 206
Spirulina II, 131
Sporobolomyces I, 160
Sporocytophaga I, 193, III, 175
Sporosarcina III, 186, 187
— *ureae* III, 195
Sporotrichum schenkii III, 411
Staphylococcus III, 219, 220, 224, 234
— *aureus* II, 72, 309—311, III, 406
— *lactis* II, 105
Stigmatella III, 169, 171
— *aurantiaca* III, 172
Streptobacillus moniliformis II, 107
Streptobacterium III, 232
Streptococcus I, 177, III, 219, 220, 222, 227
— *bovis* III, 226

Streptococcus cremoris III, 438
 — *faecalis* II, 113, III, 361
 — *lactis* III, 227, 438
 — *mutans* III, 375
 — *pneumoniae* II, 118, III, 402
 — *pyogenes* III, 402
 — *salivarius* II, 118, III, 375, 361
 — *thermophilus* III, 438
Streptomyces III, 220—225
 — *aureofaciens* III, 251, 445
 — *cacaoi* III, 251
 — *coelicolor* I, 179
 — *erythreus* III, 445
 — *faecalis* II, 50
 — *fasciculatus* III, 251
 — *flavovirides* III, 251
 — *fradiae* III, 445
 — *griseoplanus* III, 251
 — *griseus* III, 445
 — *halstidii* III, 445
 — *hirsutus* III, 251
 — *nodosus* III, 445
 — *nouresii* III, 445
 — *venezuelae* III, 445
Streptosporangium I, 179, III, 252
Sulfolobus III, 93, 96
 — *acidocaldarius* III, 96
Synechococcus lividus II, 80

Tectobacter III, 348
Termes III, 295
Tetradinium I, 138
Tetrahymena pyriformis I, 142, 143
 144
Tetramitus I, 110
Thermoactinomyces III, 188, 220—222,
 254—256
 — *sacchari* III, 255
Thermobacterium III, 232
Thiobacillus III, 69, 92, 93, 95
 — *ferrooxidans* III, 95, 100
 — *intermedius* III, 95, 97, 104
 — *neapolitanus* III, 100
 — *novelins* III, 95
 — *thiooxidans* III, 95
 — *thioparus* III, 94, 95
Thiobacterium III, 92
Thiocapsa II, 93, III, 67
Thiocystis gelatinosa III, 68
Thiodictyon II, 131, III, 67
 — *elegans* III, 67
Thiomicrospira III, 94, 95
Thiopodia II, 131, III, 67
 — *rosea* III, 68
Thioploca III, 92
Thiosarcina III, 67
Thiospira III, 92

Thiospirillum III, 67
 — *jenense* III, 68
Thiothrix II, 131, 143, III, 92, 182
Thiovulum III, 92, 93
Tolypothrix II, 131
Torulopsis III, 361
Toxoplasma gonodii III, 415
Trebouxia III, 333
 — *erici* III, 333
Trema aspera III, 326
Treponema dentium III, 361
 — *microdentium* I, 206
 — *pallidum* III, 404
Trichoderma konigi III, 455
Trichomonas I, 140, III, 361
 — *vaginalis* III, 415, 419
Trichonympha I, 140
Trichophyton III, 410
Tridacna crocca III, 302
 — *maxima* III, 300
Trypanosoma cruzi II, 415, 418
 — *gambiense* III, 415, 418
 — *rhodesiense* III, 415, 418

Ulothrix I, 130

Veilonella III, 266, 361
 — *alkalescens* III, 359
Vibrio III, 145—148, 150, 154, 155,
 156, 160
 — *cholerae* III, 145, 148, 154, 161,
 367, 376, 400
 — *comma* II, 80
 — *costiculus* II, 70, 72
 — *marinus* II, 80
Vitis vinifera III, 428
Vitreoscilla I, 193, III, 178—182

Wickerhamia I, 159
Xanthomonas II, 118, III, 27, 119,
 126, 440
 — *pharmicola* II, 80
 — *rinicola* II, 80

Xenopus II, 292
Xyleborus monographus III, 297

Yersinia III, 144—147, 150, 151, 154,
 155, 160
 — *pestis* III, 144, 154, 160, 370, 401
 — *pseudotuberculosis* II, 314

Zoochlorellae III, 313
Zoogloea ramingeri I, 196
Zooxanthellae III, 313
Zymomonas III, 120, 163
 — *mobilis* II, 50—51

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Аберрация сферическая I, 78
— хроматическая I, 78
Абиогенез I, 13
Абортивная инфекция III, 403
— — фаговая II, 184
Автотрофы I, 44
Автотрофные бактерии, открытие I, 30
Автотрофы, определение I, 55
Агар I, 28—29
Агматин I, 282
Агрессины III, 382
Аденин, структура I, 265
Аденовирус II, 158, 164, 188, III, 421
Аденозинмонофосфат, синтез I, 267
Аденозинтрифосфат, ангидридные связи I, 210
— выход II, 50
— гипотеза химического сопряжения I, 246
— доноры и акцепторы электронов в различных реакциях I, 241
— механизм образования при переносе электронов I, 246
— роль в сопряжении катаболизма с биосинтезом I, 212
— структура I, 210
— химио-осмотическая гипотеза I, 246
Аденома II, 195
Азот, роль в питании микробов I, 46—48
Азотистая кислота II, 207, 212, 214
Азотфиксирующие системы, эффективность III, 280
АИКАР (см. Аминомидазолкарбоксамид-рибонуклеотид)
Акинеты I, 188, 191
Акразиевые I, 161
Акридины II, 207, 215
Аксеническая культура I, 35
Активный транспорт II, 63
Актиномицетная линия III, 218—256
— — основные группы III, 218, 219—220
— — способы образования АТФ III, 224
D-Аланин I, 314
Алантионовая кислота III, 193
Алкилбензолсульфонаты III, 292
Аллели II, 206
— мутантные II, 206
— дикого типа II, 206
Аллергия III, 385
Аллостерические белки I, 312, II, 7
— ферменты II, 7
— — субъединичная структура II, 8
Аллофикоцианин III, 42, 48, 50
Альгиновая кислота III, 145
Альфа-частицы I, 231
Амбарный долгоносик III, 350
Амбер-кодон II, 222
«Амброзиевые жуки» III, 295
— — кармашки для хранения грибовых спор III, 297
Амебозное движение I, 110
Амебная дизентерия II, 415
Амебный менингоэнцефалит III, 415
 α -Аминоадипиновая кислота I, 275
 α -Аминоадипиновый ϵ -полуальдегид I, 275
Аминоацил-тРНК-синтетаза I, 305
n-Аминобензойная кислота I, 271
Аминогликозиды III, 445
Аминомидазолкарбоксамид-рибонуклеотид I, 280
Аминокислоты, анаэробная диссимилляция клостридиями III, 199—203
— биосинтетические группы I, 271
— получение III, 434
— синтез I, 271—282
2-Аминопурин II, 211
Аммонийфикация III, 281
АМФ (см. Аденозинмонофосфат)
Амфотерицин I, 120, III, 444, 445
Анаболизм, определение I, 209
Анамнестическая реакция III, 390
Анафилактический шок III, 393
Анаэробные спорообразующие бактерии III, 195—206
Анаэробы, не образующие эндоспор III, 257—261
— облигатные I, 54
— факультативные I, 54
Ангстрем I, 95
Аноксигенный фотосинтез III, 78
Антибиотики, аминогликозиды I, 120
— глутаримиды I, 120
— макролиды I, 120
— мишени действия I, 119
— полиеновые I, 120
— широкого спектра действия III, 444
Антигенная детерминантная III, 386
Антигены III, 386
— Н III, 157, 394
— К III, 157
— О III, 157, 373

Антигены Y_1 , III, 394
 Антимикробные вещества в тканях и жидкостях III, 382—385
 — на поверхности слизистой III, 375
 Антисептика в хирургии I, 21—22
 Антитела III, 385
 — флуоресцирующие II, III
 Антралиловая кислота I, 277
 — — метаболизм I, 230
 АПБ (см. Ацилпереносящий белок)
 Аппарат Гольджи I, 96, 99, 106
 — — пузырьки I, 99
 «Аппертизация» I, 14
 Арбовирусы II, 187, 189, III, 421
 Арбускулы III, 315
 Аргинин, путь биосинтеза I, 252, 274
 Аргининдигидролаза II, 126
 Аргининоянтарная кислота I, 274
 Ароматические соединения, окисление I, 229—230
 Аски I, 153—154
 Аскомицеты I, 153
 L-аскорбиновая кислота, получение III, 436
 Аскоспоры, образование I, 153—154
 Аспарагин, синтез I, 257, 274
 Аспарагиновый β -полуальдегид I, 274
 Аспартаттранскарбамоилаза, регуляция II, 7—10
 — субъединичная структура I, 10
 β -Аспартилфосфат I, 274
 Ассимиляция аммиака I, 257
 — нитрата I, 259
 — CO_2 I, 253
 Ассоциация «*Clorochromatium*» III, 295
 АТКаза (см. Аспартаттранскарбамоилаза)
 АТФ (см. Аденозинтрифосфат)
 Ауксотрофность II, 244
 — определение I, 57
 — разновидности II, 245
 Аутоиммунитет III, 393
 Аутотрофия облигатная III, 103—106
 Афлатоксин B_1 , структура III, 414
 — G_1 , структура III, 414
 Ацетил-S-АПБ I, 287
 N-Ацетил- γ -глутамилфосфат I, 274
 N-Ацетилглутаминовая кислота I, 274
 N-Ацетилглюкозамин I, 314
 N-Ацетилмурамовая кислота I, 314
 О-ацетилсерин I, 278
 Ацетоацетил-S-АПБ I, 287
 Ацетон I, 226, III, 165, 439
 α -Ацетомолочная кислота I, 227, 279
 Ацетон-бутаноловое брожение III, 199
 Ацетон, конечный продукт брожения I, 226

α -Ацето- α -оксимасляная кислота I, 279
 Ацилпереносящий белок I, 285
 Аэробные псевдомонады III, 119, 120
 Аэробные спорообразующие бактерии III, 188—195
 Аэробы, определение I, 54
 Аэротаксис II, 127
 Аэротолерантные анаэробы II, 83, III, 224
 Базидиомицеты I, 153
 — развитие I, 156
 Базидиоспоры, отделение I, 154
 Базидия I, 153—154
 Базофилы III, 379—393
 БАК (см. Белок, активированный каталитом)
 Бактериальные пищевые отравления III, 144, 398
 Бактерии со скользящим движением I, 187
 Бактериородопсин III, 82
 Бактериофаг λ II, 156, 177—181
 Бактериофаги II, 165—186
 — РНК-содержащие II, 185—186
 — Т-четные, морфология II, 171
 Бактериохлорофиллы, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, III, 42, 43
 Бактериоцины II, 308
 Бактериоциты III, 350
 Бактериоиды в клубеньках корней III, 318
 Бактопренол I, 284
 Балантидийная дизентерия III, 415
 Бацитрацин А III, 212
 Бацитрацины III, 212, 245
 Безмикробные животные III, 297, 362
 Белок, активированный каталитом II, 15
 — М (см. β -Галактозидпермеаза)
 — микробы как источник III, 433
 — препятствующий размножению вирусов III, 422
 — синтез I, 305—309
 — — влияние антибиотиков I, 120
 — структура I, 309—312
 — НРг II, 66
 Бензол, метаболизм I, 230
 Бесклеточные системы, открытие спиртового брожения I, 21
 Бешенство III, 405, 421
 Билины III, 48
 Биномиальная система номенклатуры III, 8
 БиOLUMИнесценция III, 155, 161
 — бактериальных симбионтов III, 303
 Биопроба II, 49, III, 455—457
 Биотин I, 52, 287
 Биохимическая генетика II, 243
 Бляшки III, 166, 167

Болезни, вызываемые риккетсиями
 III, 405
 — — хламидиями III, 409
 — человека, бактериальные III, 398—
 410
 — — вирусные III, 420
 — — вызываемые простейшими III,
 414—420
 Болезнь Марека II, 200
 — Чагаса III, 418
 Бородавки II, 195, 199
 Ботулизм III, 196, 406
 Брожение ацетон-бутаноловое III,
 198—199, 441
 — биохимия I, 226
 — бутандиоловое III, 147—149
 — гомоферментативное молочнокис-
 лое I, 228
 — маслянокислосое III, 197
 — определение I, 215
 — смешанного типа III, 147
 — — — субстратное I, 210
 — спиртовое I, 227—228
 — — равновесие окисления и восста-
 новления I, 216
 — этанола и ацетата III, 205—206
 — яблочно-молочнокислое III, 428
 Бромдезоксигуанидин II, 203
 5-бромурацил II, 211
 Брюшной тиф III, 144, 157, 400
 Бубонная чума III, 160, 401
 Бубоны III, 401
 1,3-бутандиол III, 135
 2,3-бутандиол III, 135
 — конечный продукт брожения I,
 227
 Бутанол, конечный продукт брожения
 I, 227
 Бутирил-S-АПБ I, 287
 Буферы I, 61
 — фосфатные I, 62

Вакуоль сократительная I, 109, 117,
 143
 Валин, синтез I, 273, 279
 Ванилиновая кислота, метаболизм I,
 230
 Васкулит III, 393
 Венерическая лимфогранулома III,
 409
 Венерические болезни III, 399, 419
 Вертикальная передача вируса II, 199
 Виды, наименование III, 8—9
 — определение III, 78
 — понятие III, 5—7
 Вино, болезни III, 430
 — микроорганизмы, участвующие в
 изготовлении или вызывающие пор-
 чу вин III, 429
 — производство III, 428
 Виноградный муст III, 428

Вирион I, 123, II, 155
 — величина I, 166
 Вироген II, 203
 Вироиды II, 165
 Вирулентность, определение III, 365
 Вирус гепатита III, 421
 — гриппа II, 189, III, 421
 — куистой карликовости II, 164
 — Ньюкаслской болезни II, 157
 — осповакцины II, 160
 — полиомы (см. ДНК-лигаза) II, 197
 — простого герпеса III, 421
 — саркомы Рауса II, 196
 — свинки III, 421
 — табачной мозаики II, 154, 156, 164
 — энцефаломиокардита II, 190
 — Эпштейна — Барра II, 200
 — SV-40 II, 197
 Вирусная мРНК ранняя II, 172
 Вирусные белки поздние II, 173
 — — ранние II, 172—173
 — инфекции латентные III, 424
 Вирусный репрессор II, 177
 Вирусы бактерий II, 165—186
 — животных II, 187—195
 — Коксаки III, 421
 — общие свойства I, 122—123
 — основные свойства II, 154—165
 — открытие II, 153—154
 — папилломы II, 199
 — ЕСНО III, 421
 Витамин В₁ (см. Тиамин)
 — В₂ (см. Рибофлавин)
 — В₆ (см. Пиридоксин)
 — С, производство III, 436
 Витамины, концентрация в клетках
 бактерий I, 53
 — связь с коферментами I, 52
 Внешние мембраны I, 171, II, 61
 Внутриклеточные запасы веществ II,
 137—144
 Водород, конечный продукт брожения
 I, 227, III, 147
 Водородные бактерии III, 99—101
 — влияние O₂ II, 83
 Водоросли I, 125
 — бурые I, 127
 — зеленые I, 127
 — лейкофитные I, 134
 — определение I, 125
 Возбудитель ожога III, 159
 Возвратный тиф III, 405
 Возраст клеток в момент деления II,
 52—53
 Волны Герца I, 231
 Волютин II, 143
 Воспаление II, 382—385
 Воспалительная реакция III, 391
 Воспалительные агенты III, 373
 — заболевания кишечника III, 400

Восстановительный потенциал, образование I, 214

— у гетеротрофных и автотрофных организмов I, 214—215

Вошь III, 352

Время генерации (см. Время удвоения биомассы)

Время удвоения биомассы II, 40

— — — максимальное для различных бактерий II, 41

Вторичная структура белков I, 309

Вторичные метаболиты III, 448

Вымачивание III, 440

Высвобождающий фактор II, 308

Высев в чашки *Петри* II, 47

Высокая частота рекомбинации (см. Hg-штаммы)

Выход биомассы II, 48

Газовая постоянная II, 78

Газовые вакуоли II, 131—135

β-Галактозидаза II, 12, III, 150

— регуляция синтеза II, 226

β-Галактозидпермеазная система II, 12, 64

— энергетические потребности II, 67

Галактолипиды III, 50

Галлюциногены III, 411

Галофилы II, 70

— крайние II, 70

— потребность в Na⁺ II, 73

— умеренные II, 70

Гаметангий I, 152

Гаметофит I, 150

Гаметы I, 103

Гамма-лучи I, 231

Гангрена III, 196, 406, 407

Гаплоидные организмы I, 105

Гаптенная группа III, 386—387

Гаустории III, 315

Гексадеценовая кислота II, 82

Гексаноил-S-АПБ I, 287

Гем, структура I, 243

Гемагглютинация II, 190

Гемоглобинурия III, 415

Гемолизин III, 370

Ген, конверсия II, 324

— мутатор II, 221—222

— определение II, 206

— средний размер II, 278

— *K. P. aurelia* III, 344

Генетическая изменчивость бактерий II, 265

— карта *B. subtilis* III, 213

— — *E. coli* II, 301, III, 152

— — *Salmonella typhimurium* III, 153

Генетические детерминанты I, 103

Генетический код I, 309

Генная инженерия II, 291—292

Генотип II, 242

— бактерий, сравнение III, 26—35

Гены *nif* II, 158

— *spo* III, 213, 214

Геранил III, 43

Герпесвирусы II, 164, 188, 197, 200

Гетеродуплексы III, 289

Гетерокарион II, 254

— образование I, 326—327

Гетероталлические грибы I, 152

Гетеротрофы, определение I, 54

Гетероферментативные организмы III, 229

Гетероцисты I, 189, II, 86, III, 58—60

Гиалиновые органы тридакн III, 300, 302

Гибель микроорганизмов, определение I, 42

Гибридизация нуклеиновых кислот III, 20—26

Гидрирование I, 213

Гидрогеназа III, 100

Гидроксиламин II, 212, 214

Гидрофобные связи I, 310

Гиперчувствительность быстрого типа III, 393

— замедленного типа («клеточная гиперчувствительность») III, 393—394

Гипотеза «один ген — один фермент» I, 250

Гистамин III, 382

Гистидин, синтез II, 268, 280—281

Гистинолфосфат I, 281

Гифа I, 146

Гликоген II, 39

— синтез и расщепление I, 313, II, 141

Гликозиды γ-каротина III, 47

Гликолиз, выход АТФ и НАД·Н I, 220

Гликолипиды III, 50

Гликолитический путь (см. Путь Эмбдена — Мейергофа)

Глиоксилатный цикл I, 225

— — связь с реакциями цикла лимонной кислоты I, 226

Глицин, синтез I, 278

Глутамат, сбраживание у клостридий III, 202

— синтез I, 257

Глутаматсинтетаза I, 258

γ-Глутамилфосфат I, 274

Глутамин, синтез I, 257

Глутаминовый γ-полуальдегид I, 274

Глутаминсинтетаза, ковалентная модификация II, 30

Глюкоза, структура I, 221

Глюкозный эффект II, 15

Глюкозо-6-фосфат, структура I, 221

Глюконовая кислота, получение III, 436

ГМФ (см. Гуанозинмонофосфат)

- Гниение I, 17
 ГОГАТ (см. Глутаматсинтетаза)
 Гомоизолимонная кислота I, 275
 Гомолимонная кислота I, 275
 Гомосерин I, 276
 Гомоталлические грибы I, 152
 Гомоферментативные организмы III, 229
 — факультативные III, 233
 Гомоцистеин I, 276
 Гонидий III, 180—181
 Гонококк III, 404
 Гонорея III, 141, 399, 404
 Горизонтальная передача вируса II, 198
 Горло, микрофлора III, 360—361
 Горчишный газ II, 212
 «Горячие точки» II, 240
 Грамицидин S III, 212
 Грамотрицательные бактерии, основные группы I, 187
 Грамположительные бактерии, основные группы I, 175, III, 219—220
 Гранулоциты III, 379
 — миграция через стенку вены III, 384
 График *Аррениуса* II, 78, 79
 Грибковые заболевания III, 410
 Грибной мицелий I, 146
 «Грибные плантации» в гнездах термитов III, 295
 Грибы I, 146
 Группа параккобактерий III, 156—158
 — *Nocardia* III, 238—240
 Гуанин, структура I, 265
 Гуанозин-3',5'-ди(дифосфат) II, 37
 Гуанозин-3'-дифосфат-5'-трифосфат II, 37
 Гуанозинмонофосфат, синтез I, 267
 Гумус III, 272

 Давление отбора в естественных условиях II, 266—267
 ДАП-путь I, 275
 Дегидратаза диоксикислот I, 279
 Дегидрирование, определение I, 213
 5-дегидрохиновая кислота I, 276
 5-дегидрошикимовая кислота I, 276
 2'-дезоксирибоза I, 265
 Дезоксирибонуклеаза I, 107
 — роль в процессе трансформации II, 280
 Дезоксирибонуклеаза I II, 77
 2'-дезоксирибонуклеотиды, синтез I, 269
 3-дезоксигуанозин-7-фосфо-D-арабиногептулозонат I, 276
 Декстраны II, 117, III, 439
 Деление клетки, регуляция II, 31—32
 — ядер I, 115

 Денатурация белка I, 309
 Дендрограмма III, 13
 Денитрификация III, 282
 Денитрифицирующие бактерии I, 70
 Депрессия II, 17
 Дерматомикозы III, 410
 Дерматотропные вирусы III, 420
 Десмидиевые водоросли I, 130
 г-Детерминанты II, 307
 Диализ II, 62
 Диаминомасляная кислота III, 213
 Диаминопимелиновая кислота I, 273
 LL-α,ε-диаминопимелиновая кислота I, 275
 Диастаза III, 455
 Диатомовые водоросли I, 130, 132
 Диауксия II, 15
 Диацетил III, 439
 Дигалактозилдиглицерид III, 42
 Дигидрооротовая кислота I, 268
 Дигидропиколиновая кислота I, 275
 Дигидрофитол III, 81
 Дизентерия III, 157
 — бактериальная III, 144, 400
 N,N-диметил-п-фенилендиамин I, 245
 Динофлагеллаты I, 136
 — и родственные формы I, 126
 — панцирные I, 136
 Диоксиацетонфосфат, структура I, 221
 α,β-Диоксизовалериановая кислота I, 279
 α,β-Диокси-β-метилвалериановая кислота I, 279
 Дипиколиновая кислота I, 271
 — биосинтез I, 210
 — в эндоспорах III, 208—209
 Диплоидные организмы I, 105
 Диссимилационное восстановление сульфата, механизм III, 263
 Дисульфидные мостики I, 310
 1,3-дифосфоглицериновая кислота I, 221
 Дифтерия III, 235, 401
 Диффузия облегченная II, 62—63
 — пассивная II, 62
 Дихлорфенолиндифенол I, 245
 Диэтилсульфат II, 209
 ДНК, нуклеотидный состав актиномицетной линии III, 220
 — — определение и значение III, 14—20
 — — основных биологических групп III, 17
 — — постоянство у одного вида III, 17
 — полимеразы I, II и III (пол I, пол II, пол III) II, 303
 — регуляция синтеза II, 31
 — сателлитная полоса III, 15
 — синтез I, 298

ДНК, синтез асимметричный способ II, 173

— — симметричный способ II, 173

— структура I, 298

ДНК-зависимая РНК-полимераза (см. РНК-полимеразы, Транскриптаза хозяина)

ДНК-лигазы I, 302

ДНК-полимеразы I, 299

Доброкачественные опухоли II, 195

Дрожжи верхние III, 431

— глюкофильные III, 430

— «дикие» III, 431

— использование III, 427

— нижние III, 431

— определение I, 158

— пивные III, 431

Дыхание анаэробное I, 217

— аэробное I, 217

— определение I, 217

3-енолпирувил-5-фосфошикимовая кислота I, 276

E_0° I, 240

— для различных полуреакций I, 241

Жгуты I, 107, II, 90, 120—126

— базальная структура II, 121—123

— синтез II, 123—124

Желатина, гелеобразователь I, 28

Железо, влияние на синтез токсинов III, 371

— роль в питании микробов I, 46—47

Железобактерии III, 97—99

Желтая лихорадка III, 405

«Жестокое убийство» III, 395

Жуки-долгоносики III, 352

— дровосеки III, 350

— слоники III, 352

— точильщики III, 350

Задержка фенотипического выражения II, 254

Заквашивание теста III, 433

О-замещенная боковая цепь II, 100

«Замораживание — травление» I, 84

«Защелкивающее» перемещение III, 235—237

Зеленые бактерии III, 74—78

— — несерные III, 76—78

— — серные III, 75—76

— водоросли I, 126—127

Зеоксантин III, 45

Зигота I, 103

Зооксантеллы III, 313, 327, 337

Зоохлореллы III, 313, 327, 337

Зооспора I, 128

Изолейцин, синтез I, 273

Изолимонная кислота I, 224

Изопентилпирофосфат, синтез I, 291

Изопропанол, конечный продукт брожения I, 227

α -Изопропилмаленная кислота I, 279

Изопропил- β -тио-D-галактозид II, 14

Изотопная метка, применение I, 252

Икосаэдрический вирус II, 158, 166

Имидазолглицерофосфат I, 281

Иммунитет, антитела III, 386

Иммунная недостаточность III, 397

Иммунный ответ III, 385—396

Иммуноглобулины III, 386

Иммунодепрессивное действие микробов III, 395

— — препаратов III, 397

Иммунофлуоресценция I, 82

Импульсная метка I, 252

ИМФ (см. Инозинмонофосфат)

ИМФиЦ-тесты III, 164

Инвазивность III, 365

Инвертаза III, 455

Ингибирование конечным продуктом II, 10

— — — в разветвленных метаболических путях II, 20

— по принципу обратной связи (см. Ингибирование конечным продуктом), кумулятивное II, 22

— — — последовательное II, 21—22

— — — согласованное II, 21

Индол, образование III, 156

Индол-3-глицерофосфат I, 277

Индуктор II, 11

Индукция последовательная II, 12

— синтеза фермента II, 11

— — — координированного II, 14

— — — позитивная регуляция II, 14

— фага II, 183

Инициатор синтеза белка II, 35

Инклюзионный конъюнктивит III, 409

Инозинмонофосфат, синтез I, 267

Инокулят I, 36

Интерферон III, 422

Инфекционная нить III, 321

Инфекционный мононуклеоз II, 200

Инфекция, типы III, 366

— эпителия III, 375—377

Инфракрасный свет I, 231

Инфузории I, 91

Ионизирующая радиация I, 231

ИПТГ (см. Изопропил- β -тио-D-галактозид)

Йогурт III, 438

Кала-азар III, 415, 418

Кальций, роль в питании микробов I, 47

Капельная инфекция III, 399, 402
 Капсид I, 123, II, 154
 Капсомер II, 155
 Капсула II, 90, 116—119
 — пневмококков II, 105
 Карнес III, 363
 Кариотип I, 101
 Карцинома носоглотки II, 200
 Карбоксидсмутаза (см. Рибулозодифосфаткарбоксилаза)
 γ-Карбоксимуконолактон I, 229
 Карбоксисома I, 119, II, 137
 Карбомицин III, 445
 Карбамоиласпарагиновая кислота I, 268, II, 8
 Карбамоилфосфат I, 268, 275, II, 8, 23
 Карбамоилфосфатсинтетаза, регуляция синтеза II, 23
 Карбонатвосстанавливающие бактерии I, 71
 Кардиолипин I, 284, 290
 β-Каротин III, 47
 γ-Каротин III, 47
 Каротиноиды I, 283
 — прокариот III, 45
 — роль в процессе фотосинтеза I, 232, 233
 Кatalаза II, 84—85, III, 226
 Катепсин I, 107
 Катехин I, 229
 КДО (см. 2-кето-3-дезоксиктоновая кислота)
 КДФГ (см. 2-кето-3-дезоксиглюконовая кислота)
 β-Кетоадипил-CoA I, 229
 α-Кетоадипиновая кислота I, 274
 β-Кетоадипиновая кислота I, 229—230
 β-Кетоадипиновый путь I, 229—230
 — — регуляция II, 27—28
 — — соединения I, 230
 α-Кетоглutarовая кислота, структура I, 224
 2-кето-3-дезоксиктоновая кислота I, 316, II, 101—102
 2-кето-3-дезоксиглюконовая кислота I, 223
 — — структура I, 223
 α-Кетоглиоксилиновая кислота I, 279
 α-Кетоглиоксилиновая кислота I, 279
 α-Кето-β-метилвалериановая кислота I, 279
 Кефир III, 438
 Кинетин I, 142
 Кинетодесмы I, 142
 Кислая капуста, приготовление III, 439
 Кислород, действие на бактерии II, 83
 — контроль концентрации I, 64

Кислотоустойчивость микобактерий III, 237
 Кишечная микрофлора грудных младенцев III, 244
 Кишечные инфекции III, 398
 Класс III, 9
 Классификация бактерий, принципы III, 35—37
 — — системы III, 10—13
 Клетка лимфосаркомы I, 109
 Клетки памяти III, 390
 Клетки В III, 389
 — F- II, 295
 — F+ II, 295
 — F' II, 303—305
 — T III, 388
 Клеточная стенка I, 112
 — — влияние мутаций II, 246—247
 — — синтез I, 313
 — — химический состав I, 171
 Клоны из сем. Triatomidae III, 415, 418
 Клубеньки, образование III, 321—324
 — — влияние на рост растений III, 319
 Клубеньковые бактерии, бобовые растения III, 317—324
 — — небобовые растения III, 325—326
 Кобальт, роль в питании микробов I, 46—47
 Кобамид I, 52
 Ковалентная модификация ДНК II, 271—273
 — — ферментов II, 30
 Кодон I, 297
 Кожа, микрофлора III, 360
 Койн III, 432
 Коклюш III, 376, 402
 Колановая кислота II, 118
 Колба Пастера I, 16
 Колифаг i2 II, 164
 — i4 II, 155—156, 164—165
 — — высвобождение II, 176
 Колициногенные факторы (Col-факторы) II, 284, 308—309
 Коллагеназа I, 107
 Коловратки I, 91, 92
 Колонии с выростами II, 266
 Компетентность II, 279
 Комплекс инициации I, 306
 Комплексообразующие агенты I, 64
 Комплемент III, 391—392
 Комплементация внутренняя II, 236—238
 — генетическая II, 236—238
 Конденсор I, 77
 Конидиеносцы I, 155
 Конидии I, 155
 Конститутивные ферменты II, 11, 18
 Контактное торможение II, 196

Конъюгация I, 116, II, 281—284, 293
— в различных группах бактерий II, 314

— клеток *E. coli* II, 283

Координация синтеза ферментов II, 14

Корепрессор II, 18

Коринеформные бактерии III, 218, 220—221, 240—247

Корковые лишайники III, 329—330

Коронавирусы III, 421

Корриноидный кофермент II, 204

Кортекс эндоспор III, 208

Кортизон III, 452

Корь III, 421

Космические лучи I, 231

Кофермент M III, 259

Коэффициент соответствия (S_s) III, 12

— сходства (S_J) III, 12

Кривая роста I, 41

— — лаг-фаза I, 43

— — способы графического изображения I, 42

— — фаза отмирания I, 43

— — экспоненциальная фаза I, 41

Криптические мутанты II, 64

Критичность использования цитрата II, 65

Криптобиоз III, 184

Кристаллический столбик I, 206

Кротонил-S-АПБ I, 287

Круговорот азота III, 277—283

— веществ III, 273—292

— влияние человека III, 289—292

— углерода и кислорода III, 274—277

— фосфора III, 273

Ксилулозо-5-фосфат I, 222

Культура двухкомпонентная I, 41

— ткани I, 35

Культуральные среды, подбор состава I, 57

Культуры синхронные II, 51—52

Кустистые лишайники III, 329—330

Куру III, 425

K_s II, 54—55

β -Лактамы III, 445

Лактон енола- β -кетoadипиновой кислоты I, 229

Ламинарин I, 126

Латентный период II, 168

Леваны II, 117—118

Лейкемия II, 195

Лейковирусы II, 189, 193, 197

Лейкозин I, 126

Лейкоцидины III, 382

Лейкоциты III, 378—379

Лептоспироз III, 406—407

Лёгочная чума III, 401

Лён III, 440

Лизат II, 167

Лизергиновая кислота III, 411

Лизин, синтез I, 273—275

β -Лизины III, 382

Лизогения II, 176—185

— λ -типа II, 177—181

— P1-типа II, 181—182

Лизосомы I, 105—106

Лизофосфатидная кислота I, 291

Лизоцим II, 75

— структура I, 311

Лигнин II, 272

Ликопин III, 46

Лимонная кислота (цитрат), использование III, 165

— — структура I, 224

Лимфома II, 195

— Бэркитта II, 200

Лимфотоксин III, 395

Лимфоциты III, 379, 388

— малые III, 389

Линзы иммерсионные I, 78

— электромагнитные I, 83

Липид A I, 283, 316, II, 100

Липидный состав клеток, влияние температуры II, 82

Липополисахариды I, 316

— в стенках бактериальных клеток II, 99—104

Липотейхоевая кислота II, 105, 106

Листоватые лишайники III, 329—330

Литический цикл фаговой инфекции II, 168—169

Лихорадка денге III, 405

— пуцугамуши III, 408

— Q III, 405

Лишайники I, 131, III, 329—336

— антибиотическая активность III, 335

— и водоросли III, 312

— основные типы III, 330

— размножение III, 332

— физиология III, 334—336

Лишайниковые кислоты III, 334

Лурия — Дельбрюка формула II, 257

Люцифераза III, 162

Магний, роль в питании микробов I, 46—48

Мадурамикоз III, 411

Макролиды III, 445

Макромолекулы, состав I, 263

Макрофаги III, 379

Малатдегидрогеназа галофилов II, 73

Малонил-S-АПБ I, 287

Мальпигиевы сосуды III, 352

Малярия III, 405, 414, 415

Манделевая кислота, метаболизм I, 230

Маннит III, 135
 Маслины III, 439
 Масло III, 438
 Масляная кислота, конечный продукт брожения I, 227
 Маслянокислые бактерии III, 196—199
 — — продукты сбраживания глюкозы III, 198
 Мастоидит III, 402
 Матрица сходства III, 12
 Мевалоновая кислота I, 289
 Медь, роль в питании микробов I, 46—48
 Мезаконат III, 202
 Мезо- α , ϵ -диаминопимелиновая кислота I, 275
 Мезосомы II, 95
 Мезофилы II, 79—80
 Мейоз I, 104
 Мелиоидоз III, 125
 Мембраны внешние (см. Стенка, внешний слой) II, 61
 — плазматические I, 88, II, 61—62, 90—96
 — — топология синтеза II, 110—116
 — — функция I, 112
 — транспорт II, 62
 — — механизмы II, 68
 — ундулирующие I, 141
 — элементарные I, 95
 — ядерные I, 98, 111
 Менделеевское расщепление II, 324
 Менингит III, 141
 — менингококковый III, 402
 Менингококки III, 402
 Менингоэнцефалит III, 420
 Меркаптоэтансульфоновая кислота III, 259, 260
 Меродиплоид I, 117
 Мерозигота II, 178, 270
 Меромиктические озера III, 78
 Метаболизм, определение I, 209
 Метанообразующие бактерии I, 70
 Метастатические очаги III, 401
 Метафаза I, 104
 Метиленовый красный, реакции III, 164—165
 N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин II, 212, 214
 Метилотрофы III, 106—115
 — ассимиляция углерода III, 112—115
 — облигатные III, 107—111
 — факультативные III, 111
 Метильные соединения, метаболизм III, 111
 Метионин, синтез I, 273, 276
 Метод «оспин», определение числа вирусных частиц II, 187

Метод отбора сестринских колоний с помощью отпечатков II, 249
 — *Хельмтеттера* — *Каммингсона* II, 52
 — *Эйкмана* III, 166
 Механизм движения жгутиков II, 124—126
 Миелопероксидаза III, 303
 Микобактин III, 378
 Микобациллин III, 212
 Микозы III, 410—411
 — подкожные III, 411
 — системные III, 411
 Миколовые кислоты III, 239
 Микоплазмы I, 113, 173
 Микориза III, 314—317
 Микоризный гриб в корне *Allium* III, 315
 Микотоксины III, 411
 Микроаэрофильные микроорганизмы I, 55
 Микроаэрофилы II, 83
 — облигатные III, 138
 Микробиология молока и молочных продуктов III, 430
 Микробная клетка, элементарный состав I, 47
 Микробные симбионты птиц III, 360
 Микрококки III, 219, 220, 233—235
 Микронуклеус I, 142—143
 Микроорганизмы (см. Бактерии, Водоросли, Грибы, Простейшие), оп-ределение I, 9
 Микроскоп Левенгука I, 10—11
 — простой I, 9
 — сканирующий электронный I, 85—86
 — сложный I, 9, 77
 — трансмиссионный электронный I, 83
 — ультрафиолетовый III, 81
 — фазовый III, 80
 — флуоресцентный III, 81
 Микротрубочки, система I, 107, 115
 Микрофлора полости рта и горла III, 360—361
 Микроциклический спорогенез III, 215
 Микроцисты I, 193
 Миксобактерии III, 167—175
 — алгицидные, не образующие пло-довых тел III, 173—175
 — методы накопления III, 168
 — плодовые тела III, 167—168
 — цикл развития III, 167
 — цисты III, 171
 Миксовирусы II, 164, 189
 Миксоксантофилл III, 45
 Миксомицеты I, 161
 Микоспоры III, 167, 171
 Минерализация III, 270

Миопсидовые кальмары III, 303
 Миристиновая кислота I, 286, II, 82
 Митоз I, 101
 Митотический аппарат I, 101
 Митохондрии I, 97, 99, 113
 — внутренние мембраны I, 113
 — гены II, 328
 — ДНК I, 113
 — кристы I, 99
 — происхождение I, 122
 Мицелий I, 125
 Мицетомы III, 306
 Мицетоциты III, 306
 Многоклеточность I, 88
 Многоклеточные животные I, 90
 Модель «кающегося кольца» синтеза ДНК II, 173
 Модификация бактериальных вирусов хозяином II, 271
 Мозговые оболочки III, 402
 Молибден, роль в питании микробов I, 46—48
 Молочнокислые бактерии I, 76, III, 219—221, 224—232
 — — влияние кислорода на способ образования АТФ I, 217
 — — использование III, 436
 — — лактатдегидрогеназы III, 31—34
 — — образование CO₂ III, 229
 — — подразделение III, 232—233
 Моногалактозилдиглицерид III, 42
 Мономорфизм I, 26
 Мононенасыщенные кислоты, синтез III, 286, 288
 Моноциты III, 379
 — хемотаксис III, 385
 Монулон III, 291
 Моракселлы — нейссерии группа III, 119, 140—142
 Морские бактерии II, 70
 Морфопоэтические гены, продукты II, 174
 Москиты III, 415
 Мочевая кислота III, 193
 Мочевина, гидролиз III, 159
 мРНК I, 87
 (+) — Муконолактон I, 229
 Муравьиная кислота, конечный продукт брожения I, 227
 Мурамидаза III, 339
 Мутаген II, 207
 Мутагенез II, 207
 Мутанты ауксотрофные I, 250
 — бактериофаги II, 267—269
 — биохимические I, 250
 — выявление и отбор II, 247—250
 — использование для установления последовательности реакции I, 251
 — отбор с использованием пенициллина II, 248

Мутации амбер II, 222
 — в организмах II, 267
 — влияние на фенотип II, 242
 — вызванные включением профага II, 221
 — делеции II, 207
 — замена пары оснований II, 207
 — индуцированные азотистой кислотой II, 213
 — — ультрафиолетовым светом II, 216—220
 — миссенс II, 222
 — нонсенс II, 222
 — определение II, 206
 — охра II, 222
 — плейотропные II, 247
 — скорость мутирования II, 257—260
 — со сдвигом рамки II, 207, 214—216
 — спонтанные II, 221
 — температурочувствительные II, 252
 — теплочувствительные II, 252
 — транзиция II, 210
 — трансверсия II, 211
 — условные II, 251—252
 — фенотипическое выражение II, 253—256
 — холодоочувствительные II, 252
 — чувствительные к концентрации соли II, 252
 Мутационное равновесие II, 260—262
 Мутуалистический симбиоз II, 294—296
 Муха це-це I, 141, III, 415
 — — симбиотические микроорганизмы III, 307
 Мхи I, 95
 Мягкая гниль растений III, 159

НАД (см. Никотинамидадениндинуклеотид)
 НАДФ (см. Никотинамидадениндинуклеотидфосфат)
 Накипные лишайники III, 329, 330
 Нанометр I, 95
 Напыление металлом I, 84
 Насекомые, микробиологические методы борьбы III, 453
 — эндосимбиозы грибов и бактерий III, 349—355
 Натрий, роль в питании микробов I, 46—48
 Нафталин, метаболизм I, 230
 Негалофильные организмы II, 70, 72
 Негативное окрашивание II, 117
 Негемовое железо I, 233
 «Нейротоксин Shiga», III, 372
 Нейротропные вирусы III, 420
 Нейтрализация антителами II, 390
 Нейтрофилы III, 379
 Нематоды I, 92
 Неомидин III, 445

Неполные (leaky) мутации II, 215
 Непрерывные культуры II, 35—60
 — — использование II, 59
 Несовершенные грибы I, 155
 Нетиповой штамм III, 9
 Нефелометр II, 46
 Ниацин (см. Никотиновая кислота)
 Никель в качестве кофактора ферментов III, 100
 Никотинамидадениндинуклеотид, роль в реакции дегидрирования I, 213
 — — — окисления — восстановления I, 214
 — структура I, 21, 214
 Никотинамидадениндинуклеотид-фосфат, роль в реакциях дегидрирования I, 213—214
 Никотинамид-рибонуклеотид, структура I, 214
 Никотиновая кислота I, 52, II, 44
 — — брожение III, 203
 Нистатин I, 120, III, 444, 445
 — использование при получении чистых культур I, 39
 Нитритредуктаза I, 260
 Нитрозогуанидин (см. N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин)
 Нитрификация III, 281
 Нитрифицирующие бактерии I, 30, III, 87—92
 Новообразования II, 195
 Нонсенс-кодоны II, 222
 «Нормальная флора» человека III, 360—362
 Нуклеозиддифосфаткиназа I, 270
 Нуклеозиды, структура I, 265
 Нуклеокапсид (см. Капсид)
 Нуклеоплазма I, 111
 5-нуклеотидаза II, 77
 Нуклеотиды, синтез I, 265—271

Облегченная диффузия II, 62
 — — кипетика II, 63
 Obligatные анаэробы, методы культивирования I, 64
 Обогащение, накопительные культуры I, 67—75
 Образование метана, конечные этапы III, 261
 — — субстраты III, 260
 Обратная транскриптаза II, 193, 203
 Обратный перенос электронов III, 102
 Огурцы, засолка III, 439
 Одиночный цикл развития, кривая II, 169
 Оказки фрагменты I, 301
 Окисление глюкозы I, 218
 — неорганических соединений I, 229
 Окислительно-восстановительный потенциал I, 240

Окислительное фосфорилирование I, 218
 Окраска по Граму I, 172
n-Оксибензойная кислота I, 229, 271
 β-Оксибутирил-АПБ II, 287
 Оксигеназы II, 87
 Оксидазный тест I, 245, III, 118
n-Оксиманделевая кислота, метаболизм I, 230
 5-оксиметилцитозин II, 169
 β-Оксимиристиновая кислота I, 286
 5-окситриптами III, 382
n-Оксифенилпировиноградная кислота I, 278
 Октадееновая кислота II, 82
 Оляха, связывание азота III, 325
 ОМФ (см. Оротидинмонофосфат)
 Онкогенез II, 197
 Операторные гены II, 227
 Оперон II, 229
 — регуляция II, 232—233
 Опухолеродные вирусы II, 197—205
 Определение числа клеток II, 46
 — — — жизнеспособных II, 47
 — — — общего II, 46
 Определятель бактерий *Берги* I, 168
 Опсонизация III, 392
 Оптическая плотность II, 45
 — — связь с массой бактериальных клеток II, 45
 Опухоли II, 195
 Органеллы I, 119
 — эукариот, возможное происхождение III, 310
 Орнитин I, 273, 282
 Орнитоз III, 409
 Оротидинмонофосфат I, 268
 Оротовая кислота I, 268
 Осахаривание III, 430
 Освещение критическое в световом микроскопе I, 78
 — темнопольное I, 81
 Осевая пень, движение прокариотических клеток I, 118
 Осмолярность II, 70
 Осморегуляция II, 70
 Осмотическое давление II, 69
 Осмофилы II, 70
 Основные температурные точки II, 78
 Острый гломерулонефрит III, 393
 Отбор сестринских колоний II, 249
 Отжиг ДНК III, 20
 Охра-кодон II, 223
 Очистка сточных вод III, 289—290
 — — — с использованием активного ила III, 290

Палеонтологическая летопись III, 11
 Пальмитиновая кислота I, 286, II, 82
 Пальмитоолеиновая кислота I, 286
 Пантотеновая кислота I, 52, 271

- Паповавирусы II, 164, 188, 197
Папиллома II, 195
Папоротники I, 95
Парагрипп III, 421
Паразитический симбиоз III, 296—299
Парамиксовирусы II, 164, 189
Парасексуальность II, 326—327
Паратиф III, 400
Пассивная диффузия II, 62
Пастеризация I, 68
Патогенность, определение III, 365
Патогены растений III, 124
— условные III, 124
Патогены для рыб III, 178
Пенициллин, использование для получения чистой культуры I, 39
— механизм действия II, 108
— открытие III, 443
Пенициллиназа II, 76, 77
Пенициллины III, 445, 447
Пент
Пентахлорфенол III, 291
Пентозофосфатный путь I, 220
Пенька III, 440
Пептидная связь I, 296
Пептидные антибиотики III, 212
Пептидогликан грамположительных и грамотрицательных бактерий I, 169
— кортекса спор III, 209, 211
— общая структура II, 97
— синтез I, 313—316
— структура I, 314
— типа A III, 221
Первичная структура белков I, 309
Переаминирование I, 258
Передвижение амёбное I, 118
— механизмы у бактерий I, 181
— плавание I, 118, 183
— скольжение I, 118, 183
Перекисный радикал II, 84
Перекись водорода, действие на бактерии II, 84
Перенос радикалов через мембрану I, 65
— электронов, механизм I, 238
— — механизм образования АТФ I, 246
— — обратный I, 230
— — в процессе фотосинтеза I, 238
— — у хемоавтотрофов I, 239
— — роль при дыхании и фотосинтезе I, 238
— хромосомы с участием F-фактора II, 295—297
Переносчики информации III, 405
Переокислитель III, 135
Период лизиса II, 168
Периодические культуры II, 55
Периодический отбор II, 264
Периплазматические ферменты II, 76
Периплазматическое пространство II, 61, 76
Перитеций I, 156
Перитонит III, 402
Пермеаза II, 62
Пероксидаза II, 84
Пестициды, устойчивость в почве III, 291
Печеночники I, 95
Пиво III, 431
— изготовление III, 430
Пигменты фотосинтезирующего аппарата III, 41
Пикорнавирусы II, 164, 187, 189, 193
Пили I, 186, II, 90
— половые I, 186
Пилин II, 120
Пиноцитоз III, 105
Пиперидин-2,6-дикарбоксилат I, 275
Пиримидиновые нуклеотиды (см. НАД и НАДФ) I, 215
— — окисленная и восстановленная формы I, 214
— — роль в метаболизме I, 213
Пиридоксин I, 52
Пиримидиновые димеры II, 216
— нуклеозиды, использование I, 270—271
Пиримидины, использование I, 270—271
— — сбраживание III, 203
Пировиноградная кислота, пути образования I, 219—221
— — структура I, 221
Пирогенность III, 373—374
Δ'-Пирролин-5-карбоксилат I, 274
Питание жвачных III, 356—357
— микробов, принципы I, 46
— — роль элементов I, 46—48
Пищеварение I, 105, II, 74
Пиявка III, 341
Плазматические клетки III, 390
Плазмиды I, 114
— деградации II, 309
— «камфарные» II, 309
— криптические II, 311
— мобилизация II, 295
— «октановые» II, 309
— основные группы II, 305
— пенициллиназные II, 309
— роль в конъюгации бактерий II, 282
— «салициловые» II, 309
— структура молекул II, 286—289
— типы II, 284
— F-lac II, 291
— SCP1 II, 315
Плазмодий I, 160
Плазмодиз II, 70
Плазмодиты I, 96
Плеоморфизм I, 26—27

- Плодовые тела миксобактерий I, 192
 Пневмококковая пневмония III, 402
 Поверхностные структуры II, 90
 Повышенная чувствительность (аллергия) III, 385
 Подострый склерозирующий панэнцефалит III, 425
 «Позвоночные» I, 87
 Показатель преломления I, 79
 Покрытосеменные I, 87
 Поксвирусы II, 164, 188, 197, III, 421
 Пол у бактерий II, 283
 Полигенная информационная РНК III, 231
 Полиглутаминовая кислота II, 118
 Полиголовки II, 175
 Полиеновые антибиотики III, 445
 Полиизопреновые соединения, синтез I, 289
 Полимиксин III, 212
 В III, 447
 — G III, 445
 Полинуклеотидлигаза II, 180
 Полиовирусы III, 421
 Поли- β -оксibuтират I, 283, II, 32, 138
 Полипептиды антибиотики III, 445
 Полисахариды, синтез I, 312—313
 Полисома I, 308
 Полиэдральные тела (см. Карбоксисомы)
 Половое размножение I, 1033
 Половые пили II, 293
 Полосы *Cory* I, 245
 Полярность трансляции II, 231
 Поражение картофеля I, 21
 Порфирины, синтез I, 289—293
 Порфобилиноген I, 292
 Порядок III, 9
 Последовательная индукция I, 249
 Послеродовой сепсис III, 402
 Постулаты *Koха* I, 24
 Поцелуйный клоп III, 350
 Предел разрешения светового микроскопа I, 78
 Префеновая кислота I, 276
 Проактиномицеты III, 218, 220, 221
 Провирус, теория II, 202
 Продиigioзин III, 159
 Прокариоты I, 94
 — величина генома I, 168
 — структурной единицы I, 166
 — и эукариоты I, 121
 — морфология I, 165
 — таксонометрическое подразделение I, 168
 Проллин, синтез I, 274
 Промотор II, 231
 1,2-пропандиол III, 135
 β -Пропиолактон II, 209
 Пропионовая кислота, конечный продукт брожения I, 227
 Пропионовокислые бактерии I, 76
 Пропластиды I, 103
 Проспора III, 207
 Простейшие I, 139—146
 — бактериальные эндосимбионты III, 343—348
 — в рубце III, 358
 — происхождение I, 136
 — эндосимбионты III, 327—329
 Простека I, 186, 113
 Протисты, величина структурной единицы I, 166
 — концепция I, 93
 Протозил III, 442
 Протокатеховая кислота I, 230
 Протоперитеции I, 155
 Протопласты II, 88
 Протопорфирин I, 292
 Прототрофность II, 244
 — определение I, 57
 Профаг II, 176
 — дефектный II, 185
 — токсины III, 371
 — участок прикрепления к хоомосоме бактерий II, 179
 Профлавины II, 214
 Псевдомонады III, 122—128
 — группы III, 123
 Псевдоравновесие мутантов в популяции II, 265
 Пситтакоз III, 409
 Психрофилы облигатные II, 79
 — факультативные II, 79
 Пузырьки газовые I, 119
 Пуриновые нуклеозиды, использование бактериями I, 270—271
 — рибонуклеотиды, синтез I, 266
 Пурины, использование бактериями I, 270—271
 — сбраживание III, 203
 Пурпурные бактерии III, 62—75
 — альтернативный путь фиксации CO_2 III, 64—65
 — влияние интенсивности света на скорость роста III, 73
 — превращение уксусной и масляной кислот III, 63—64
 — серные бактерии III, 67—69
 — несерные бактерии III, 69—74
 Пурпурный компонент мембраны III, 81
 Пустула III, 403
 Путресцин I, 280
 АА-путь I, 275
 Путь *Эмбдена* — *Мейергофа* I, 219—221
 — *Энтнера* — *Дудорова* I, 223, 228, III, 120
 Пятнистые лихорадки III, 408
 рН, контроль I, 60—61
 — шкала I, 61

Размножение вирусов животных II, 191
 Разрешающая способность светового микроскопа I, 77
 Рак II, 195
 Раневые инфекции III, 406—407
 Распределение Пуассона II, 259
 Реакция Артюса III, 393
 — связывания компонента III, 391
 — Стикланда III, 200—201
 — Фогес — Проскауера III, 164
 Реверсия II, 208
 Ревматизм III, 393, 402
 Регуляторные гены II, 227
 — механизмы II, 5
 — — — основные II, 19
 — — — разнообразие II, 27
 Регуляция биосинтеза и деградация малых молекул II, 6
 — — — — — генетические аспекты II, 225—233
 — — — — — механизмы II, 18
 — — — — — пути превращения аспарагиновой кислоты II, 24—25
 — по принципу обратной связи II, 10
 — синтеза ферментов II, 11
 Редуктоизомеразы I, 279
 Рекомбиназы II, 290
 Рекомбинация бактериальных вирусов II, 321—322
 — — — механизм II, 273—275
 — митотическая II, 325—326
 — митохондриальных генов II, 328—331
 — при мейозе II, 323—326
 — у бактерий II, 270—277
 — эукариот II, 322—331
 — хлоропластных генов II, 328—331
 Ренин III, 437
 Рентгеновские лучи I, 231
 Реовирусы II, 164, 189
 Репликаза II, 193
 Репликация I, 99, II, 300
 Репликон II, 147—150, 275
 Репрессор II, 11
 Репрессия катаболитная II, 15
 — конечным продуктом II, 17
 — — — в разветвленных биосинтетических путях II, 17, 24
 — мультивалентная II, 26
 — ферментов пути биосинтеза изолейцина, валина и лейцина II, 26
lac-Репрессор II, 226
 Реснички I, 107
 Респираторный синцитиальный вирус III, 421
 Рестрикционная эндонуклеаза II, 292
 Рестрикция II, 271
 — ДНК II, 271—273
 Ретикуло-эндотелиальная система III, 380

Ретиналь III, 82
 Ретинен III, 82
 Рибит II, 104, 105
 — в лишайниках III, 312
 Рибоза, структура I, 265
 Рибозо-5-фосфат, структура I, 222
 Рибонуклеаза I, 107, II, 77
 — структура I, 310—311
 Рибосома III, 87, 98, 111
 — структура I, 305
 — число на клетку II, 6
 Рибофлавин I, 52
 — обратимое окисление и восстановление I, 243
 — производство III, 243
 — структура II, 243
 Рибулозо-1,5-дифосфат I, 254
 Риболозодифосфаткарбоксилаза I, 254, II, 137
 Рибулозо-5-фосфат I, 254
 Ризоиды I, 148, 150
 Ризосфера III, 294, 314
 Риккетсии в клетках куриного эмбриона I, 204
 — общие свойства I, 203
 Риккетсиозная оспа I, 408
 Риновирусы III, 421
 Рифадин III, 446
 Рифактин III, 446
 Рифамицин III, 446
 Рифампин III, 446
 Рифампицин III, 446
 РНК, синтез I, 303
 — — — зависимость от синтеза белков II, 35
 — — — регуляция II, 35
 — — — с ослабленным контролем II, 36—37
 — — — со строгим контролем II, 36—37
 РНК-зависимая РНК-полимераза (см. Репликаза, РНК-репликаза и Обратная транскриптаза)
 РНК-полимераза I, 301, 303—305
 РНК-репликаза II, 185
 Роль микроорганизмов как возбудителей болезней, открытие I, 20
 Рост микроорганизмов II, 39
 — — — влияние температуры II, 78
 — — — растворенных веществ II, 69
 — — — измерение II, 44
 — — — линейный II, 43
 — — — математическое выражение II, 39
 — — — несбалансированный II, 42
 — — — определение II, 39
 — — — сбалансированный II, 39
 — — — синхронный II, 51
 — — — экспоненциальная фаза II, 41
 рРНК I, 87
 Рубец у жвачных III, 355

Рубец у жвачных образование газа
III, 357

— овцы, микрофлора III, 356

R (см. Газовая постоянная)

Сакэ III, 432

Салициловая кислота I, 230

Санитарные исследования III, 163—166

Сап III, 125

Саркома II, 195

Сахаропин I, 275

Сбраживание глюкозы гомоферментативными молочнокислыми бактериями III, 229—231

— — энтеробактериям III, 148

— — *B. subtilis* III, 189

— — *Bifidobacterium* III, 245

— — *Sarcina* III, 233

— — пропионовокислое III, 243—244

Священные бактерии III, 163

— рыбы III, 303

Свободная энергия I, 209

Связи, богатые энергией I, 210

Связывающие белки II, 65

Севооборот III, 317

Седогептулозо-7-фосфат I, 222

Селективные маркеры II, 279

Семейство III, 9

Сера, бактерии I, 30

— горчичный газ I, 212, 214

— двуокись при производстве вина III, 248

— круговорот III, 283—285

— роль в питании микробов I, 46—48

Серин, синтез I, 277, 278, 280

Сериновый путь с ассимиляцией C_1 -соединений III, 112

Серотонин III, 382

Сефадекс III, 440

Сибирская язва I, 22, III, 191, 365, 403, 404

— — токсин III, 368

Сигма-субъединица РНК-полимеразы I, 303

Симазин III, 291

Симбиоз внутриклеточный I, 106

— типы III, 293—298

— у жвачных III, 355—359

— установление III, 306

— функции III, 298—306

— эволюция III, 309—311

Симбионты простейших III, 348

Синглетное состояние кислорода II, 85

Синтетазы N-ацетилглутаминовой кислоты II, 23

— ацетоксикислот I, 279

Синхронность II, 52

— индуцированная II, 51

Синхронность отбора II, 51

Системы цитохромов I, 245

Сифилис III, 399, 404

Скарлатина III, 402

Скольжение III, 167

Скорость гибели, определение I, 43

Скорость разбавления II, 57

— роста, влияние на состав клеток II, 6

— — влияние концентрации питательных веществ II, 54

— — индивидуальных клеток II, 53

— — константа II, 39

Следовые элементы I, 48

Сливочное масло III, 438

Слизевика I, 160

Слизистый слой (см. Капсула) II, 90

Смена генераций I, 149

— фаз III, 157

Соединения с богатыми энергией связями I, 212

Соли желчных кислот III, 109

Солнечник I, 140

Солнечный свет, спектральный состав I, 232

Солод III, 4300

Соматические антигены III, 373

Сонная болезнь африканская I, 141, III, 405, 415

Сорбит III, 135

Сорбоза III, 135

— производство III, 436

Соредии III, 331, 332

Спазм мышц при столбняке III, 406

Спиривание оснований I, 300

Спектр электромагнитных волн I, 231

Спектральный состав света I, 66

Спектрофотометр II, 45

Спермидин I, 280, II, 146

Спермин I, 280, II, 146

O-Специфичные цепи I, 316

α -Спираль I, 309

Спириллоксантин III, 46

Спирохеты I, 205

— структура I, 184

Спонтанное зарождение («самозарождение») I, 12—17

Спорообразующие бактерии III, 184—217

— — классификация III, 185—186

— — расщепляющие мочевины, накопление III, 195

Споротрихоз III, 411

Спорофит I, 150

Споры, генетика образования III, 213—215

— оболочка III, 208

— созревание у *B. polymyxa* III, 216

Спорынья III, 411

Стандартная свободная энергия I, 209
 — — — окисления яблочной кислоты I, 241
 — — — связь с $\Delta E'_0$ I, 240
 Стенка (см. Клеточная стенка) бактериальная II, 96—116
 — внешний слой II, 99—104
 — — — функции II, 109
 — грамположительных бактерий II, 104—106
 — топология синтеза II, 110—116
 Стенотермофилы II, 79
 Стерилизация тепловая I, 44—45
 — теория и практика I, 42
 — фильтрованием I, 45—46
 — химическая I, 45
 Стерильность I, 36
 Стерины I, 113
 Столбняк III, 196, 406, 407
 — токсин III, 366, 367
 Столоны I, 151
 Стрептомицеты, генетика *S. coelicolor* II, 315
 — морфология спор III, 251
 — прорастающие споры III, 249
 — спорулирующие гифы III, 250
 — цикл развития III, 249
 Стрептомицин III, 445, 447
 — открытие III, 444
 — супрессия II, 225
 Субстратное фосфорилирование I, 211
 Субэпителиальные ткани, инфекция III, 377
 Сукцинат, образование при помощи *Propionibacterium* III, 243
 О-Сукцинилгомосерин I, 276
 N-сукцинил-L- α , ϵ -диаминопимелиновая кислота I, 275
 N-сукцинил- ϵ -кето-L- α -аминопимелиновая кислота I, 275
 Сульфаниламид III, 442
 Сульфат ассимиляционное восстановление I, 262—263
 Сульфатредуцирующие бактерии I, 71, III, 257
 — — — активность в природе III, 265
 — — — пути восстановления сульфита III, 264
 Сульфитредуктаза I, 263
 Супероксиддисмутаза II, 84
 Супрессия виегенная II, 210
 — внутригенная II, 210
 — генетическая II, 251
 — негенетическая II, 251
 — стрептомицином II, 251
 — 5-фторурацилом II, 252
 Супрессорные мутации II, 210, 223—225
 Сусло III, 431
 Счетная камера II, 46

Сыпной тиф III, 405
 — — — эндемический III, 405, 408
 Сыр бри III, 438
 — камамбер III, 438
 — лимбургский III, 438
 — производство III, 437—438
 — рокфор III, 438
 — чеддер III, 438
 — швейцарский III, 438
 Таксономия III, 5
 — адансоповская (или нумерическая) III, 11—13
 Тараканы, эктосимбионты простейших III, 348
 Таутомерные переходы пуринов и пиримидинов II, 211
 Тейховая кислота I, 170, II, 92, 104—106
 Тельца Гольджи I, 111
 Темновая репарация II, 217
 Тёмновые реакции I, 237
 Температура, влияние на липидный состав клеток II, 82
 — плавления ДНК ($T_{пл}$) III, 14
 — роста максимальная II, 78
 — — минимальная II, 78
 — — оптимальная II, 78
 Температурные пределы роста II, 80
 «Тени» (пустые клеточные мембраны) II, 88
 Теория онкогена II, 202
 — протовируса II, 204
 Термиты III, 295
 — фиксация азота III, 349
 — эктосимбиозы с простейшими III, 348—349
 Термофильные актиномицеты III, 254
 — бациллы III, 195
 Термофилы II, 79
 Тестостерон III, 451
 Тетрадный анализ II, 324
 Тетрациклин III, 445, 447
 Тиамин I, 52, 53
 Тиаминпирофосфат I, 52
 Тиксотропные гели III, 440
 Тилакоид I, 112, 119, II, 96, III, 50
 Тимин, использование бактериями I, 270
 — структура I, 265
 Тиндализация I, 17
 Тиометилгалактозид (ТМГ) II, 13
 Типовой штамм II, 9
 Тирозин, синтез I, 276, 278
 Тироцидин A, III, 212
 ТМГ (см. Тиометилгалактозид)
 Токсигенность III, 365
 Токскозы III, 410, 411
 Токсины микробные III, 366—375
 — природа III, 367—369

n-Толуиловая кислота, метаболизм I, 230
 Толуол, метаболизм I, 230
 Тонкое картирование III, 238—239
 Торфяные болота III, 277
 Трансальдолаза I, 220, 222
 — роль в цикле *Кальвина* I, 256
 Трансаминаза B I, 279
 Трансацетилаза II, 229
 Трансдукция I, 116—117, II, 316—321
 — абортивная II, 320
 — общая II, 319
 — специфическая II, 317—319
 Транскетолаза I, 220, 222
 — роль в цикле *Кальвина* I, 256
 Транскриптаза хозяина II, 192
 Транскрипция I, 99, 297
 Трансляция I, 99, 297
 Транспептидаза II, 109
 Транспептидация I, 316
 Трансфераза II III, 372
 Трансферрины III, 378
 Трансформация I, 33, 117, II, 196, 277—281
 Трансформирующее начало II, 277
 Трахома III, 409
 Треонин, синтез I, 273, 274
 Третичная структура белков I, 309
 Тридакны, водоросли-симбионты III, 300, 302
 Трипаносомы I, 141
 Триптофан, метаболизм I, 230
 Триптофаназы III, 165
 Триптофановый репрессор II, 18
 тРНК I, 87
 Трофозонты III, 414
 Туберкулез III, 235, 401
 Туберкулезный бугорок III, 401
 Тулярия III, 403, 404, 405
 Тучные клетки III, 393
trp R (ген) II, 17

Убихинон, структура I, 243
 Увеличение микроскопа I, 76—77
 Углеводы, выделяемые фотосинтезирующими симбионтами III, 313
 Углекислота, конечный продукт брожения I, 227
 — снабжение культур I, 65
 Уксус III, 133, 435
 — производство III, 435
 Уксусная кислота, конечный продукт брожения I, 227
 Уксуснокислые бактерии I, 76, III, 119, 133—136
 — — использование человеком III, 435
 Умеренный бактериофаг II, 176
 УМФ (см. Уридинмонофосфат)
 Ундулирующая лихорадка III, 403
 Урацил, структура I, 265

Уреаза III, 194
 Уридинмонофосфат, синтез I, 268—269
 Уропорфириноген III, 291, 292
 Усиновая кислота III, 335
 Устойчивость к антимикробным агентам II, 245
 — — лекарствам I, 114
 — — фагам, механизм II, 255
 Фаг (см. Бактериофаги), конверсия II, 321
 — лизоцим II, 175
 — репрессор II, 182
 — T2 (T4, T6) II, 164, 167
 — ØX174 II, 182
 Фагоцитин III, 380
 Фагоцитоз I, 105
 ФАД (см. Флавинадениндинуклеотид)
 Фактор переноса устойчивости II, 306
 — устойчивости (см. R-фактор)
 — фертильности (см. F-фактор)
 F-фактор II, 283
 R-фактор II, 284, 305—308
 — группы несовместимости II, 306
 Факторы инициации I, 306
 — роста I, 52
 — элонгации I, 307
 Факультативная анаэробность III, 144
 Фарнезил III, 43
 Фарнезол I, 233
 Фенилаланин, синтез I, 277—278
 Фенилпировиноградная кислота I, 278
 Фенотип I, 87, II, 242
 Фермент I II, 67
 — рестрикции II, 272
 Ферменты II II, 67
 — изофункциональные II, 20—21
 — относительная скорость синтеза II, 13
 — подобные интегразе II, 290
 — связанные с клеткой II, 77
 — чувствительные к кислороду II, 86
 Ферредоксин I, 261, III, 51
 — роль в процессе фотосинтеза I, 234
 Фикобилисомы III, 40, 48, 49
 Фикобилипротеиды I, 233, III, 40, 47—50
 Фикомицеты водные I, 148
 — наземные I, 150
 — отличия от высших грибов I, 152
 Фикоцианин III, 42, 48, 60
 Фикоцианобилин III, 48
 Фикозритрин III, 42, 48, 60
 Фикозритробилин III, 48
 Фикация азота I, 260
 — — роль микроорганизмов I, 30
 — — *Enterobacter* III, 158
 Филиппин I, 120

Филлосфера III, 313
 Фильтрующиеся вирусы (см. Вирусы)
 Фитил III, 43
 Фитол I, 233
 Фитопланктон III, 276
 Флавинаденидинуклеотид I, 242
 — структура I, 243
 Флавиномононуклеотид I, 242
 — структура I, 243
 Флавопротеиды I, 242
 Флагеллин II, 120
 ФМН (см. Флавиномононуклеотид)
 Фолиевая кислота I, 52
 Фораминифера I, 140
 Формиатгидрогеназа III, 147—149
 L-формы I, 175, II, 107—109, 247
 Фосфатидилглицерин I, 285, 290
 Фосфатидилсерин I, 285, 290
 Фосфатидилэтаноламин I, 285, 290
 2-фосфоглицериновая кислота I, 221
 3-фосфоглицериновая кислота I, 221
 3-фосфоглицериновый альдегид, структура I, 221
 6-фосфоглюконовая кислота, структура I, 222
 6-фосфоглюконолактон I, 222
 Фосфодиэфирная связь I, 296
 Фосфоенолпировиноградная кислота, роль в фосфорилировании субстрата I, 211
 — — структура I, 221
 3-фосфопировиноградная кислота I, 278
 Фосфолипиды II, 91
 — структура I, 285
 Фосфор, роль в питании микробов I, 47
 N-фосфоробозилантранилат I, 277
 5'-фосфоробозил-АТФ I, 281
 5-фосфоробозил-1-пиррофосфат, роль в синтезе нуклеотидов I, 265
 Фосфоробозилтрансфераза II, 67
 Фосфоробулкиназа, роль в цикле Кальвина I, 256—257
 3-фосфосерин I, 278
 Фосфотрансферазная система II, 66
 5-фосфошкимовая кислота I, 276
 Фотоавтотрофы, определение I, 55
 Фотогетеротрофы, определение I, 56
 Фотометр II, 46
 Фотон I, 231
 Фотореактивация II, 217—218
 Фотосенсибилизаторы II, 85
 Фотосинтез I, 230
 — бескислородный I, 219
 — кислородный I, 219
 — определение I, 218
 — различие между кислородным и бескислородным I, 236
 — система улавливания световой энергии I, 232

Фотосинтез темновые реакции I, 237
 — у бактерий (см. Фотосинтез бескислородный)
 — — растений (см. Фотосинтез кислородный)
 — цепь переноса электронов I, 233
 — эволюция III, 79
 Фотосинтезирующие жгутиковые I, 127—130
 — прокариоты, нуклеотидный состав ДНК III, 65
 — — функциональные свойства III, 40
 — — цвет III, 54
 Фотосинтезирующий аппарат I, 230
 Фототаксис II, 129—131
 Фототроф, определение I, 55
 Фотофосфорилирование I, 218
 — нециклическое I, 236
 — циклическое I, 234
 Фотохимические реакционные центры I, 233
 — — — типа I I, 237
 — — — II I, 237
 Фотохромогенные виды III, 238
 ФПУ (см. Фактор переноса устойчивости)
 Фрагменты Оказаки I, 301
 Фрамбезия III, 399
 ФРПФ (см. 5-фосфорибозил-1-пиррофосфат)
 Фруктозо-1,6-дифосфат, структура I, 221
 Фруктозо-6-фосфат, структура I, 221
 n-Форфенилаланин, влияние на рост бактерий II, 44
 Фумаровая кислота, структура I, 224
 F (см. Число Фарадея)

Хемоавтотрофия, метаболическая окислительная III, 99—101
 Хемоавтотрофы I, 230, III, 86—106
 — источники энергии I, 230
 Хемогетеротрофы, определение I, 56
 Хемолитотрофы (см. Хемоавтотроф)
 Хеморецепторы II, 128—129
 Хемостат II, 59
 Хемотаксис II, 126—129
 Хемотрофы, определение I, 56
 — среды для выращивания I, 57, 58, 66
 Херес III, 429
 Химноосмотическая гипотеза I, 246—247
 Химиотерапевтические агенты, производство III, 442—443
 Химиотерапия III, 442—443
 Хинная кислота I, 230
 Хиноны I, 242, 284

Хиноны обратимое окисление и восстановление I, 244

Хитин I, 145

Хитридиевые I, 148

— жизненный цикл I, 148

Хлебопечение III, 433

Хлорамфеникол I, 102, 120, III, 445, 447

Хлорден III, 291

Хлоробактин III, 47

Хлоробиум-везикулы II, 135—136, III, 40—41

Хлоропласты I, 90, 98

— ДНК I, 114

— происхождение I, 122

Хлорофилл *a* III, 43

Хлорофиллы, спектральные свойства I, 233

— спектры поглощения I, 233

— структура I, 232—233

— тетрапиррольное ядро I, 232

Хмель III, 431

Холера III, 161, 400

— токсины III, 367, 369

Холестерин III, 451

Холодовой осмотический шок II, 65

Хоризмовая кислота I, 276

Хризифиты I, 126

Хроматиды I, 101, II, 324

Хромобластомикоз III, 411

Хромосома I, 99

— бактериальная I, 114, II, 145—147

Хромосомные гибриды III, 151

— анаэробная генерация АТФ в темноте III, 5

«Цветение воды» III, 62

ЦДФ-диглицерид I, 290

Целлюлоза, бактерии — симбионты

крупного рогатого скота III, 358

— в стенках *Sarcina* III, 234

— сбраживающие клостридии III, 204

— синтез III, 136

Ценоцитная структура I, 89

Центриоль I, 107

Центромера II, 325

Цепи питания III, 297

Цепь переноса электронов I, 217

— — — взаимодействие различных компонентов I, 244

— — — длины волн основных полос поглощения цитохромов I, 246

— — — локализация I, 239

— — — основные компоненты I, 242

— — — физиологическая функция I, 240

Цефалоспорины III, 445

Цианеллы III, 328

Цианобактерии III, 55—62

Цианобактерии комлементарная хроматическая адаптация III, 60

— метаболизм углерода III, 56

— фиксация азота III, 57—60

— экология III, 61—62

Цианофичин III, 142

Цикл *Кальвина* I, 254—257

— лимонной кислоты (см. Цикл трикарбоновых кислот)

— трикарбоновых кислот (ЦТК) I, 224—226

Циклогексимида I, 120

Циклофосфодиэстераза II, 77

Циннеб III, 291

Цинк, роль в питании микробов I, 46—48

цис-транс-Тест II, 233—235

цис, цис-β-Карбоксимуконная кислота I, 228

цис, цис-Муконовая кислота I, 229

Цистатинин I, 276

Цистенин I, 276, 277

Цитидинтрифосфат, синтез I, 268

Цитозин, структура I, 265

Цитолитические токсины III, 370

Цитопатический эффект вирусов II, 187

Цитоплазма, течение I, 109

Цитопрокт I, 143

Цитостом I, 142

Цитофаринкс I, 143

Цитохром *c*, спектр поглощения I, 244

Цитохромы I, 242

Цитрамалат III, 202

Цитруллин I, 274

ЦТК (см. Цикл трикарбоновых кислот)

ЦТФ (см. Цитидинтрифосфат)

Четвертичная структура белков I, 311

Чехол мицелля III, 249

Число *Фарадея* I, 240

Числовая апертура I, 78

Чистые культуры, выделение I, 36

— — методы получения I, 27—29

— — определение I, 27

Членистоногие I, 92

Чума III, 401, 404, 405

Шампанское III, 428

Шелковичный червь, грибковые заболевания I, 21

«Шероховатые мутанты» II, 110

Шикимовая кислота, метаболизм I, 230, 276

Шляпочный гриб I, 125, 147

— — жизненный цикл I, 157

Шов (у диатомовых) I, 130

Штаммы с множественной устойчивостью к лекарственным препаратам II, 305

Щавелевоглутаровая кислота I, 275

Щавелевоуксусная кислота I, 224

ЭБ-вирус (см. Вирус Эпштейна — Барра)

Эвгленовы водоросли I, 126—127

Эволюционные взаимоотношения между различными группами эукариот I, 163

Эволюция дивергентная III, 6

Эвритермофилы II, 79

Эвтрофикация III, 62

Эденны III, 212

ЭДТА (см. Этилендиаминтетрауксусная кислота)

Экдизон III, 349

Экзогенота II, 270

Экзоспориум III, 191, 208

Экзотоксины III, 367—373

— механизм действия III, 371—373

Экзоферменты II, 74—78

— индукция II, 76

— механизм выделения II, 77

— репрессия катаболитом II, 75

Экзоцитоз I, 99, 105

Экстрадиол II, 196

Эктосимбиоз III, 293

Элдрич III, 291

Электронная пушка I, 82

Электронный зонд I, 85

ЭМС (см. Этиленметансульфонат)

Эндогенная инфекция III, 362

Эндогенное анаэробное дыхание III, 5

— пирогенное вещество III, 374

Эндогенные вирусы II, 203

Эндогенота II, 270

Эндоплазматический ретикулум I, 98, 111

Эндосимбиоз III, 293

Эндосимбионт I, 106

— клеточный I, 113

— простейших, альфа III, 348

— — гамма III, 348

— — дельта III, 348

— — каппа III, 343—348

— — — R-клетки III, 346

— — лямбда III, 348

— — мю III, 348

— — ню III, 348

— — сигма III, 348

Эндоспоры III, 184, 207

Эндоспоры активация, прорастание и развитие III, 215

— актиномицет III, 254

— образование III, 207

— прорастание III, 176

— *B. subtilis* III, 209

— *Clostridium* III, 176

Эндотоксины III, 368, 373—375

— клостридий III, 196

Эндоцитоз I, 105, 112—113

Энергия активации II, 78

— поддержания II, 59

Энтеробактерии I, 76, 144—166

— генетическое родство III, 151

— средний нуклеотидный состав ДНК III, 146

Энтеротоксин α (стафилококковый) III, 370

Эозинофилы III, 379

Эписомы II, 290

Эритритол III, 135

— влияние на *Brucella* III, 377

Эритрогенный токсин III, 371

— — *Str. pyogenes* III, 371

Эритрозо-4-фосфат, структура I, 222

Эритромицин III, 445, 447

Эритроциты III, 380

Эритрулоза III, 135

Этанол, конечный продукт брожения I, 227

Этилен, восстановление нитрогеназой I, 261—262

Этиленгликоль III, 135

Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) I, 64, 76

Этилметансульфонат (ЭМС) II, 212, 214

Эуактиномицеты III, 218, 220, 221, 249—256

— развитие III, 219

— свойства спор III, 253

Эубактерии грамтрицательные I, 194

— — клеточный цикл I, 195

— группы I, 201

Эукариотический геном I, 99

Эукариоты I, 94

Эхинон III, 45

Яблочная кислота, в вине III, 428

— — структура I, 224

Ядро бактериальное I, 14

— интерфазное I, 100

Ядрышко I, 100

Ядрышковый организатор I, 100

Янтарная кислота, структура I, 224

ОГЛАВЛЕНИЕ

16	Классификация бактерий. (Перевод В. К. Плакунова)	5
	Виды: единицы классификации	5
	Проблемы таксономического расположения организмов	9
	Новые направления в таксономии бактерий	13
	Сравнение бактериальных генотипов с помощью генетического анализа	26
	Основные принципы классификации бактерий	35
	Список литературы	37
17	Фотосинтезирующие прокариоты. (Перевод Ю. Н. Зографа)	39
	Функциональные свойства фотосинтезирующих прокариот	40
	Цианобактерии	55
	Пурпурные бактерии	62
	Зеленые бактерии	74
	Эволюция фотосинтеза	79
	Галобактерии и действие на них света	80
	Список литературы	84
18	Грамотрицательные бактерии. Хемоавтотрофы и метилотрофы. (Перевод Ю. Н. Зографа)	86
	Хемоавтотрофы	86
	Метилотрофы	106
	Происхождение хемоавтотрофов и метилотрофов	116
	Список литературы	116
19	Грамотрицательные бактерии: аэробные хемотротрофы. (Перевод В. Г. Никифорова)	118
	Список литературы	142
20	Энтеробактерии и родственные им организмы (Перевод В. Г. Никифорова)	144
	Общие свойства энтеробактерий	145
	Генетическое родство между энтеробактериями	151
	Таксономическое подразделение энтеробактерий	154
	Колиформные бактерии в санитарных исследованиях	163
	Список литературы	166
21	Грамотрицательные бактерии: миксобактерии и другие скользящие организмы. (Перевод В. Г. Никифорова)	167
	Миксобактерии	167
	Группа цитофаг	175
	Нитчатые скользящие хемотротрофы	178
	Нитчатые бактерии, окисляющие соединения серы	182
	Список литературы	183
22	Грамположительные бактерии: одноклеточные спорообразующие бактерии. (Перевод В. Г. Никифорова)	184
484	Анаэробные спорообразующие бактерии: род <i>Clostridium</i>	195

	Анаэробные спорообразующие бактерии: род <i>Desulfotomaculum</i>	206
	Эндоспора	207
	Список литературы	216
23	Грамположительные бактерии: актиномицетная линия. (Перевод В. К. Плакунова)	218
	Группа I: молочнокислые бактерии	224
	Микрококки	233
	Группа II: <i>Corynebacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i>	235
	Группа II: аэробные коринеформные бактерии	240
	<i>Geodermatophilus</i> и <i>Dermatophilus</i>	247
	Группа III: эуактиномицеты	249
	Список литературы	256
24	Облигатные анаэробы, не образующие спор. (Перевод В. К. Плакунова)	257
	Метанообразующие бактерии	257
	Род <i>Desulfovibrio</i>	261
	Анаэробы, не образующие спор и обладающие броидильным типом метаболизма	266
	Список литературы	268
25	Микроорганизмы как геохимические агенты. (Перевод В. К. Плакунова)	269
	Микроорганизмы как агенты, вызывающие геохимические изменения	270
	Круговорот веществ	273
	Круговорот фосфора	273
	Круговорот углерода и кислорода	274
	Круговорот азота	277
	Круговорот серы	283
	Круговорот веществ в анаэробных условиях	286
	Круговорот веществ на протяжении геологической истории Земли	287
	Влияние человека на круговорот веществ	289
	Список литературы	292
26	Симбиоз. (Перевод В. К. Плакунова)	293
	Типы симбиоза	293
	Функции симбиоза	298
	Установление и поддержание симбиоза	306
	Эволюция симбиоза	309
	Список литературы	311
27	Симбиотические ассоциации между фотосинтезирующими и нефотосинтезирующими партнерами. (Перевод В. К. Плакунова)	312
	Симбиоз, в котором фотосинтезирующим партнером является высшее растение	313
	Симбиозы, в которых фотосинтезирующий партнер является микроорганизмом	327
	Список литературы	337
28	Симбиотические ассоциации между двумя нефотосинтезирующими организмами. (Перевод В. К. Плакунова)	338
	Симбиозы, в которых оба партнера являются микроорганизмами	338
	Симбиозы между микроорганизмами и многоклеточными хозяевами	348
	Список литературы	363
29	Патогенность микробов. (Перевод А. М. Колчинского)	365
	Микробные токсины	366
485	Инфекция эпителия	375

Инфекция субэпителиальных тканей	377
Конститутивные защитные механизмы хозяина	378
Индукцибельные защитные механизмы хозяина: иммунный ответ	385
Список литературы	396

30 Болезни человека, вызываемые микроорганизмами. (Перевод	
А. М. Колчинского)	397
Бактериальные болезни	398
Грибковые заболевания	410
Болезни, вызываемые простейшими	414
Вирусные болезни	420
Список литературы	425

31 Использование микроорганизмов человеком. (Перевод А. М. Кол-	
чинского)	427
Использование дрожжей	427
Микробы как источник белка	433
Использование уксуснокислых бактерий	435
Использование молочнокислых бактерий	436
Использование маслянокислых бактерий	440
Получение лекарственных препаратов	442
Микробиологические методы борьбы с насекомыми	453
Получение других химических веществ	454
Получение ферментов	454
Использование микроорганизмов в биологических тест-системах	455
Список литературы	457
Указатель латинских названий	458
Предметный указатель	464

УВАЖАЕМЫЙ ЧИТАТЕЛЬ!

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва, И-110, ГСП,
1-й Рижский пер., д. 2,
издательство «Мир»

Р. СТЕЙНИЕР, Э. ЭДЕЛЬБЕРГ, Дж. ИНГРЭМ

МИР МИКРОБОВ

Том 3

Научные редактор Н. М. Амелянчик и Н. Н. Шафрановская
Мл. научный редактор З. В. Соллертинская
Художник Л. Кулагин
Художественный редактор Б. Н. Юдкин
Технический редактор Л. П. Чуркина
Корректор Т. П. Пашковская

ИБ № 1857

Сдано в набор 20.03.79. Подписано к печати 19.07.79. Формат 60×90¹/₁₆.
Бумага типографская № 1. Гарнитура латинская. Печать высокая. Объем
15,25 бум. л. Усл. печ. л. 30,50. Уч.-изд. л. 32,92. Изд. № 4/9871. Тираж
12 000 экз. Заказ № 1420. Цена 2 р. 60 к.

Издательство «Мир», Москва, 1-й Рижский пер., 2.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном
комитете Совета Министров СССР по делам издательств, полиграфии
и книжной торговли, 113105. Москва, Нагатинская ул., 1.



MILF

MIKPO

BOB

3